فرم برنامه درسی (Course Plan)

دانشکده بهداشت و پیراپزشکی

نام درس: کشت سلول های جانوری	**تعداد واحد: ۱ واحد عملی**
مقطع : کارشناسی ارشد	**مدت زمان ارائه درس:** ۵ ساعت
پیش نیاز: ندارد	
مسئول برنامه: دکتر حاجیه لطفی (عملی)	

هدف کلی درس: **آشنایی با انواع کشت سلول های جانوری و کاربرد های آن**

عناوین کلی این درس شامل موارد زیر می باشد:

۱) شستشو استریل کردن : وسایل کشت- انکوباتورها، هود لامینار فلو، اتاق کشت
۲) محیط سازی و استریل کردن: تهیه محیط پایه، افزودن سرم، فیلتراسیون، شرایط و زمان نگهداری محیط استریل شده، تهیه بافرهای لازم (PBS سرم فیزیولوژی....)
۳) کشت اولیه فیبروبلاست های جنین جوجه، بافت یا کلیه حیوان آزمایشگاهی
۴) پاساژ دادن: شستشو، تریپسینه کردن، تقسیم و انکوباسیون
۵) شمارش و ارزیابی زنده بودن سلولها، تریپان بلو
۶) نگهداری و استفاده مجدد از سلولهای نگهداری شده (cryopreservatio)(مواد حفاظت کننده: گلیسیرین، DMSO، تهیه محیط کشت محافظت شده، چگونگی قراردادن سلولها در شرایط سرما)، احیاء و استفاده مجدد از سلول های فریز شده، چگونگی خروج سلول از شرایط سرما، شرایط کشت مجدد

.....

جلسه اول

هدف کلی: آشنایی با وسایل و دستگاههای مورد نیاز کشت سلول

❖ اهداف اختصاصی

دانشجو باید بتواند:

- از انواع پلیت ها، فلاسک ها، بطری ها، سمپلرها ، انکوباتورها، اتوکلاو کردن، هود لامینار، تانک ازت در اتاق کشت استفاده کند.
- نحوه کار در آزمایشگاه کشت سلول و رعایت ایمنی در آزمایشگاه کشت سلول را به درستی اجرا نماید.

جلسه دوم

هدف کلی: محیط سازی و استریل کردن انواع محیط کشت ها

- **اهداف اختصاصی**

دانشجو باید بتواند:

- محیط کشت پایه و انواع محیط کشت های سلول برای رشد سلول ها را تهیه نماید.
- میزان سرم و درصد آن را برای انواع مختلف سلول و محیط کشت محاسبه نماید.
- استریل کردن انواع محیط های کشت سلول (محیط های وابسته به سرم و محیط های عاری از سرم) را انجام دهد.
- الیکوت کردن محیط کشت ها را انجام دهد.
- نحوه نگهداری و مدت زمان نگهداری محیط کشت ها و بافر ها را اجرا نماید.
- بافرهای لازم مانند تهیه سرم فیزیولوژی، تهیه استوک آنتی بیوتیک را تهیه نماید.

جلسه سوم

هدف کلی: کشت اولیه فیبروبلاست های جنین جوجه، بافت یا کلیه حیوان آزمایشگاهی

- **اهداف اختصاصی**

دانشجو باید بتواند:

- سلول های بافت را جداسازی نموده و آنها را با رعایت شرایط لازم در شرایط آزمایشگاهی رشد دهد.
- رشد سلول های فیبروبلاست را با استفاده از فاکتورهای رشد در محیط کشت های اختصاصی انجام دهد.

جلسه چهارم

هدف کلی: پاساژ دادن: شستشو، تریپسینه کردن، تقسیم و انکوباسیون

- **اهداف اختصاصی**

دانشجو باید بتواند:

- تکنیک پاساژ سلولی، تعویض محیط کشت و انتقال به فلاسک جدید را انجام دهد.
- با محلولهای شستشوی مانند PBS استریل محیط کشت و سلول ها را شستشو دهد.
- افزودن آنزیم تریپسین برای جداسازی سلولهای چسبنده را انجام دهد.
- منحنی رشد سلول ها را محاسبه نماید.

جلسه پنجم

هدف کلی: شمارش و ارزیابی زنده بودن سلولها، تریپان بلو

- **اهداف اختصاصی**

دانشجو باید بتواند:

- شمارش سلولی را با لام نئوبار و رنگ آمیزی تریپان بلو انجام دهد.
- نحوه استفاده از میکروسکوپ را برای رویت و مشاهده اولیه سلول ها را بدرستی انجام دهد.
- غلظت و تعداد انواع سلول های کشت یافته را با فرمول مخصوص محاسبه نماید.
- روش تیمار سلول ها با داروها را انجام دهد.
- روش MTT را برای ارزیابی توکسیستی داروها در پلت ۹۶ خانه انجام دهد.

جلسه ششم

هدف کلی: نگهداری و استفاده مجدد از سلولهای نگهداری شده، احیاء و استفاده مجدد از سلول های فریز شده، چگونگی خروج سلول از شرایط سرما، شرایط کشت مجدد

- **اهداف اختصاصی**

دانشجو باید بتواند:

- سلول ها را از تانک بیرون آورده و آنها را کشت مجدد بدهد.
- سلول ها را با استفاده از مواد حفاظت کننده(گلیسیرین، DMSO) تیمار کرده و در تانک ازت ذخیره نماید.
- سلولهای کشت داده شده را جمع آور کرده و تا مرحله ذخیره آنها در تانک ازت پیش روند.

روش آموزش

- حضور در آزمایشگاه، کار عملی، فیلم های آموزشی مربوطه و پروژکتور

شرایط اجراء

- **امکانات آموزشی بخش**
  - آزمایشگاه کشت سلول، تخته وایت برد، ارائه بصورت پاورپوینت
- **آموزش دهنده**
  - دکتر لطفی

منابع اصلی درسی

- اصول کشت سلول ،دکتر محمد رضا خرمی، انتشارات اندیشه سبز
- Aschner M et al. Cell Culture Techniques Springer.
- John RW Masters. Animal cell culture: a practical approach. Oxford university press

Fereshney IR. Culture of Animal Cells:A Manual of Basic Technique and Specialized Application.

ارزشیابی

- **نحوه ارزشیابی**
  - مشارکت در فعالیتهای آزمایشگاهی
  - تهیه گزارش کار
  - آزمون عملی
- **نحوه محاسبه نمره کل**
  - مشارکت در فعالیت های آزمایشگاهی و حضور در کلاس ۵ نمره
  - گزارش کار ۵ نمره
  - آزمون عملی پایان ترم ۱۰ نمره
- **مقررات**
  - حداقل نمره قبولی :۱۴
  - تعداد دفعات مجاز غیبت در کلاس: ۲ جلسه

جدول زمانبندی درس کشت سلول های جانوری

سرفصل مطالب	نحوه ارائه	منابع درسی	امکانات مورد نیاز	روش ارزشیابی
آشنایی با وسایل و دستگاههای مورد نیاز کشت سلول	حضور در آزمایشگاه فیلم های اموزشی سامانه نوید	**	*	&
محیط سازی و استریل کردن انواع محیط کشت ها	حضور در آزمایشگاه فیلم های اموزشی سامانه نوید	**	*	&
کشت اولیه فیبروبلاست های جنین جوجه، بافت یا کلیه حیوان آزمایشگاهی	حضور در آزمایشگاه فیلم های اموزشی سامانه نوید	**	*	&
پاساژ دادن: شستشو، تریپسینه کردن، تقسیم و انکوباسیون	حضور در آزمایشگاه فیلم های اموزشی سامانه نوید	**	*	&
شمارش و ارزیابی زنده بودن سلولها، تریپان بلو	حضور در آزمایشگاه فیلم های اموزشی سامانه نوید	**	*	&
نگهداری و استفاده مجدد از سلولهای نگهداری شده، احیاء و استفاده مجدد از سلول های فریز شده، چگونگی خروج سلول از شرایط سرما، شرایط کشت مجدد	حضور در آزمایشگاه فیلم های اموزشی سامانه نوید	**	*	&
جلسه رفع اشکال و امتحان	Adobe connect کلاس عملی			

*آزمایشگاه، تخته وایت برد، رایانه (پاورپوینت)، سامانه نوید- adobe connect

**منابع درسی:

- اصول کشت سلول ،دکتر محمد رضا خرمی، انتشارات اندیشه سبز
- John RW Masters. Animal cell culture: a practical approach. Oxford university press
- R. Freshney. Culture of animal cells

& نحوه ارزشیابی:

- مشارکت در فعالیتهای آزمایشگاهی
- گزارش کار
- آزمون پایان ترم بصورت عملی - تشریحی