

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سلول‌شناسی و تکنیک‌های پیشرفته
بافت‌شناسی و هیستوشیمی



دکتر ابوالقاسم نبی‌پور
استاد دانشگاه فردوسی مشهد
فرهاد محمدی قشلاق

سرشناسه: نی پور، ابوالقاسم، ۱۳۴۶ -
 عنوان و نام پدیدآور: سلول شناسی و تکنیک‌های پیشرفته بافت شناسی و هیستوشیمی ابوالقاسم نبی پور، فرهاد محمدی قشلاقی.
 مشخصات نشر: مشهد: دانشگاه فردوسی مشهد، انتشارات، ۱۴۰۱.
 مشخصات ظاهری: ۲۲۴ ص: مصور.
 فروست: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۸۵۱.
 شابک: ISBN: 978-964-386-544-3
 وضعیت فهرست نویسی: فیپا.
 یادداشت: کتابنامه: ص. ۲۲۱ - ۲۲۲. نمایه.
 موضوع: بافت شناسی -- فن
 بافت شیمی -- فن
 یاخته شناسی
 شناسه افزوده: محمدی قشلاقی، فرهاد، ۱۳۶۲ -
 شناسه افزوده: دانشگاه فردوسی مشهد، انتشارات.
 رده بندی کنگره: QM556
 رده بندی دیویی: ۶۱۱/۰۱۸۰۲۸
 شماره کتابشناسی ملی: ۹۰۵۴۱۳۹

Histology -- Technique
 Histochemistry -- Technique
 Cytology

سلول شناسی و تکنیک‌های پیشرفته بافت شناسی و هیستوشیمی

پدیدآورندگان: دکتر ابوالقاسم نبی پور؛ فرهاد محمدی قشلاقی
 ویراستار ادبی: هانیه اسدیپور فعال مشهد
 مشخصات: وزیری، ۱۰۰ نسخه، چاپ اول، زمستان ۱۴۰۱
 چاپ و صحافی: چاپخانه دقت
 بها: ۱/۲۰۰/۰۰۰ ریال
 حق چاپ برای انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد محفوظ است.



مراکز پخش:

فروشگاه و نمایشگاه کتاب پردیس: مشهد، میدان آزادی، دانشگاه فردوسی مشهد، جنب سلف یاس
 تلفن: ۳۸۸۳۳۷۲۷ - ۳۸۸۰۲۶۶۶ (۰۵۱)
 مؤسسه کتابیران: تهران، میدان انقلاب، خیابان کارگر جنوبی، بین روانمهر و وحید نظری، بن بست
 گشتاسب، پلاک ۸ تلفن: ۶۶۴۸۴۷۱۵ (۰۲۱)
 مؤسسه دانشیران: تهران، خیابان انقلاب، خیابان منیری جاوید (اردیبهشت) نبش خیابان نظری، شماره ۱۴۲
 تلفکس: ۶۶۴۰۰۲۲۰ - ۶۶۴۰۰۱۴۴ (۰۲۱)

<http://press.um.ac.ir>

Email: press@um.ac.ir

فهرست مطالب

۱۳	مقدمه
۱۵	فصل ۱. میکروسکوپ‌ها و کاربرد آن‌ها
۱۶	میکروسکوپ نوری
۱۸	نگهداری از میکروسکوپ‌ها
۱۹	میکروسکوپ ماوراءبنفش
۱۹	میکروسکوپ فلورسنس
۲۰	میکروسکوپ زمینه تاریک
۲۱	میکروسکوپ اختلاف فاز یا فاز متضاد
۲۱	میکروسکوپ پلاریزه
۲۲	میکروسکوپ استریو
۲۳	میکروسکوپ هم‌کانون
۲۳	میکروسکوپ الکترونی
۲۴	میکروسکوپ الکترونی گذاره یا عبوری
۲۶	شست‌وشو با بافر
۳۲	میکروسکوپ الکترونی نگاره یا روبشی
۳۴	نحوه کار میکروسکوپ الکترونی روبشی
۳۵	نگهداری از میکروسکوپ‌ها
۳۶	منابع
۳۷	فصل ۲. آماده‌سازی بافت
۳۷	نمونه‌برداری
۳۷	پایدار کردن یا ثبوت
۳۸	طرز تهیه بافر فرمالین خنثی
۳۹	ثبوت با روش ایمرژن
۳۹	ثبوت با روش پرفیوژن
۴۰	۱- آلدهیدها
۴۱	۲- جیوه‌ای‌ها
۴۱	۳- الکل‌ها

۴۱	۴- عوامل اکسیدکننده
۴۲	۵- پیکرات‌ها
۴۳	فیکساتیوهای میکروآناتومیکیال
۴۳	فیکساتیوهای سیتولوژیکیال (سلولی)
۴۳	مایع فلمینگ
۴۳	مایع کارنوی
۴۴	مایع هلی
۴۴	آب‌گیری
۴۵	شفاف‌سازی (بی‌الکل کردن)
۴۵	آغشتگی
۴۶	قالب‌گیری یا بلوک کردن
۴۶	برش‌گیری
۴۶	مقاطع انجمادی
۴۷	کلسیم‌گیری
۴۸	استخوان
۴۸	دندان‌ها
۴۸	اسیدنیتریک - فرمالدهید
۴۹	اسیدنیتریک آبی (۵ تا ۱۰٪)
۴۹	اسیدتری کلرواستیک
۵۰	اسیدهیدروکلریک
۵۰	روش دکلسیفیکاسیون
۵۱	ارزیابی و تشخیص دکلسیفیکاسیون
۵۱	آرتیفکت‌ها
۵۲	رنگ‌آمیزی
۵۳	چسباندن لامل (مونه کردن)
۵۴	منابع
۵۵	فصل ۳. رنگ‌آمیزی‌های بافتی
۵۵	رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین
۵۵	هماتوکسیلین
۵۶	فرمول هماتوکسیلین هاریس:
۵۷	ائوزین
۵۷	فرمول تهیه اسیدالکل

۵۷	انواع محلول‌های آبی کننده:
۵۷	روش رنگ آمیزی هماتو کسپلین و اتوزین
۵۸	رنگ آمیزی سیتولوژی
۵۸	رنگ آمیزی مربوط به تست پاپانیکلاو
۵۸	تهیه اسمیر
۵۹	فیکسسیون
۵۹	فرمول هماتو کسپلین‌ها ریس (تغییر یافته برای رنگ آمیزی پاپانیکلاو):
۵۹	OG6 محلول
۵۹	محلول EA50
۵۹	روش رنگ آمیزی پاپانیکلاو
۶۵	رنگ آمیزی‌های اختصاصی بافت
۶۵	رنگ آمیزی بافت همبندی
۶۶	روش مالوری با اسید فسفو تنگستیک
۶۶	روش مالوری با اسید فسفو مولیبدیک
۶۷	روش ون گیسون
۶۹	روش ماسون تری کروم
۷۲	رنگ آمیزی رشته‌های الاستیک
۷۲	روش ورهوف
۷۳	رنگ آمیزی رشته‌های رتیکولر
۷۵	رنگ آمیزی رتیکولین، غشای پایه و مزانژیوم گلو مرون کلپه
۷۷	رنگ آمیزی غضروف و استخوان
۷۸	هماتو کسپلین هاریس
۷۹	رنگ آمیزی کلسیم
۸۰	رنگ آمیزی گرانول‌های سیتوپلاسمی
۸۳	رنگ آمیزی چربی
۸۵	روش سودان سیاه ب
۸۶	روش سودان ۳ برای چربی
۸۷	روش رنگ آمیزی تتروکسید اسمیوم
۸۸	روش رنگ آمیزی تیروکسید اسمیوم (بلوک پارافینی)
۸۹	رنگ آمیزی کربوهیدرات‌ها و موکوپروتئین‌ها
۹۰	روش پرودییک اسید شیف (PAS)
۹۰	محلول لوکوفوشین شیف

۹۱ تست برای محلول لوکوفوشین شیف
۹۱ محلول ۰/۵ درصد پرئودیک‌اسید
۹۱ اسید کلریدریک نرمال
۹۱ تهیه رنگ متضاد با سبز روشن ۰/۲ درصد
۹۱ محلول هماتو کسلیلین هاریس
۹۱ روش‌های رنگ آمیزی
۹۳ روش موسی کارمین مایر
۹۴ روش آلسین آبی
۹۵ رنگ آمیزی آمیلوئید
۹۵ روش بن هولز با قرمز کنگو
۹۶ روش متیل گرین
۹۷ روش متیل ویوله
۹۷ رنگ آمیزی آهن
۹۸ روش پرلز
۱۰۰ رنگ آمیزی هموسیدرین
۱۰۱ رنگ آمیزی املاح صفراوی
۱۰۲ رنگ آمیزی بیلی‌روبین
۱۰۳ رنگ آمیزی غلاف میلین
۱۰۳ روش وایل وایگرت
۱۰۴ رنگ آمیزی مس
۱۰۵ روش رودانین
۱۰۶ رنگ آمیزی فیبرین
۱۰۶ روش ویگرت
۱۰۷ رنگ آمیزی هموگلوبین
۱۰۸ رنگ آمیزی نوکلئار فست‌رد
۱۰۸ رنگ آمیزی گرانول‌های هیپوفیز
۱۱۰ رنگ آمیزی غده آدرنال
۱۱۰ روش پونسوفوشین
۱۱۲ رنگ آمیزی سلول‌های جزایر لانگرهانس
۱۱۲ روش گوموری کرومیوم هماتو کسلیلین فلوکسین
۱۱۳ رنگ آمیزی ماست سل
۱۱۳ روش لونا

فهرست مطالب ۷

۱۱۵	روش دومینوسی
۱۱۶	رنگ آمیزی HBsAg کبد (یک آنتی ژن در کبد)
۱۱۶	روش اورسٹین
۱۱۸	منابع
۱۱۹	فصل ۴. ایمونوهیستوشیمی و ایمونوسایتوشیمی
۱۱۹	فسفاتازها
۱۲۰	پراکسیدازها
۱۲۰	برچسب زدن
۱۲۱	آنتیبادیهای تک دودمانی و چنددودمانی
۱۲۱	ایمونوهیستوشیمی مستقیم
۱۲۲	ایمونوهیستوشیمی غیرمستقیم
۱۲۳	کنترل عملکرد اختصاصی آنتیبادی
۱۲۳	بازیابی آنتیژن
۱۲۴	دورگه سازی
۱۲۴	منابع
۱۲۵	فصل ۵. مورفومتری یا مورفولوژی کمی
۱۲۵	استریولوژی
۱۲۷	نمونه گیری ایزوتروپیک و تصادفی یکنواخت
۱۲۸	نمونه گیری و آماده سازی نمونه های بافتی برای استریولوژی
۱۲۹	شمارش نقطه ای
۱۳۱	منابع
۱۳۳	فصل ۶. سلول
۱۳۴	ابعاد سلولی
۱۳۴	تکامل و ساختمان سلول های پروکاریوتی
۱۳۵	تکامل و ساختمان سلول های یوکاریوتی
۱۳۵	غشای سلول
۱۳۶	لیپیدهای غشا
۱۳۶	طبقه بندی لیپیدها
۱۳۷	۱- لیپیدهای ساده
۱۳۷	۲- لیپیدهای مرکب

۱۳۷	اسیدهای چرب
۱۳۷	خواص آمفی‌پاتیک لیپیدها
۱۳۸	پروتئین‌های غشا
۱۳۸	انواع پروتئین‌های غشا
۱۳۹	طبقه‌بندی پروتئین‌ها
۱۳۹	پروتئین‌های ساده
۱۳۹	پروتئین‌های کروی
۱۴۰	پروتئین‌های رشته‌ای
۱۴۱	ا. پروتئین‌های محلول
۱۴۱	ب. پروتئین‌های غیرمحلول
۱۴۱	پروتئین‌های ترکیبی
۱۴۲	کربوهیدرات‌های غشا
۱۴۲	ساختمان شیمیایی کربوهیدرات‌ها
۱۴۵	سیستم‌های انتقال از غشا
۱۴۵	انتشار
۱۴۵	پینوسیتوز
۱۴۵	آندوسیتوز با واسطهٔ رسپتور
۱۴۶	فاگوسیتوز
۱۴۶	اگزوسیتوز
۱۴۶	وظایف غشای سلول
۱۴۶	گیرنده‌های غشا
۱۴۷	سیتوپلاسم
۱۴۷	میتوکندری
۱۴۸	غشای خارجی
۱۴۸	فضای بین‌غشایی
۱۴۸	غشای داخلی
۱۴۸	ماتریکس
۱۴۸	هستهٔ سلول
۱۴۹	پوشش هسته‌ای
۱۴۹	غشای بیرونی
۱۴۹	فضای بین دو غشا
۱۴۹	غشای داخلی

۱۵۰	منافذ غشای هسته
۱۵۰	شیره هسته (نوکلئوپلاسم)
۱۵۰	پروتئین‌های شیره هسته
۱۵۱	ساختار شیره هسته
۱۵۱	اسکلت هسته‌ای
۱۵۱	شبکه لامینایی
۱۵۲	اسکلت هسته‌ای درونی
۱۵۲	هستک
۱۵۲	کروماتین
۱۵۳	شبکه آندوپلاسمیک
۱۵۳	دستگاه گلژی
۱۵۴	ساکول یا سیسترن
۱۵۵	دیکتیوزوم
۱۵۶	ترکیب شیمیایی دستگاه گلژی
۱۵۶	منشأ دستگاه گلژی
۱۵۷	اَعمال دستگاه گلژی
۱۵۷	لیوزوم
۱۵۸	آنزیم‌های لیوزومی
۱۵۹	انواع لیوزوم
۱۵۹	لیوزوم اولیه
۱۵۹	لیوزوم ثانویه
۱۶۰	اَعمال لیوزوم
۱۶۰	اسکلت سلولی
۱۶۰	عملکرد پروتئین‌های ضمیمه
۱۶۰	ریزلوله‌ها (میکروتوبول)
۱۶۱	خاصیت قطبی بودن ریزلوله‌ها
۱۶۱	نقش ریزلوله‌ها
۱۶۱	ریزرشته‌ها
۱۶۲	اهمیت اکتین
۱۶۲	رشته‌های حدّواسط
۱۶۲	انواع رشته‌های حدّواسط
۱۶۳	ریوزوم‌ها

۱۶۳	انواع ریوزوم‌ها
۱۶۴	نحوه فرارگیری ریوزوم‌ها
۱۶۴	عمر متوسط ریوزوم‌ها
۱۶۴	پروتئین‌سازی؛ نقش اصلی ریوزوم‌ها
۱۶۴	پراکسی‌زوم و گلی‌اکسی‌زوم
۱۶۵	کاریوتیپ
۱۶۵	تقسیم میتوز
۱۶۵	اینترفاز
۱۶۶	تقسیم یاخته‌ای
۱۶۷	عوامل مؤثر در تقسیم میتوز
۱۶۷	سانتریول‌ها
۱۶۷	کروماتین
۱۶۷	کروموزوم
۱۶۷	پروفاز
۱۶۸	متافاز
۱۶۹	آنافاز
۱۶۹	تلوفاز
۱۷۰	تقسیم سیتوپلاسم
۱۷۰	تقسیم میوز
۱۷۲	مرحله دوم میوز
۱۷۳	منابع
۱۷۵	فصل ۷. کشت سلول و کاربرد سلول‌های حیوانی در کشت سلول
۱۷۶	کاربردهای کشت سلول
۱۷۷	محاسن کشت سلولی
۱۷۷	طراحی آزمایشگاه کشت سلولی
۱۷۸	دستورالعمل کار در اتاق کشت سلولی
۱۷۹	شست‌وشو و استریلیزاسیون لوازم اتاق کشت
۱۸۰	تجهیزات و امکانات آزمایشگاه کشت سلولی
۱۸۰	هود لامینار
۱۸۱	انکوباتورها
۱۸۲	سانتریفیوژ
۱۸۲	میکروسکوپ‌ها

۱۸۳	سیستم‌های خنک‌کننده شامل یخچال، فریزر و تانک نیتروژن
۱۸۳	سیستم‌های استریلیزاسیون شامل اتوکلاو و فور (آون)
۱۸۴	پمپ خلأ
۱۸۴	مهم‌ترین انواع کشت سلولی
۱۸۴	کشت عضو
۱۸۵	کشت سلولی اولیه
۱۸۵	کشت سلولی پیوسته
۱۸۶	منع بافتی مناسب برای کشت سلولی
۱۸۶	خصوصیات مورفولوژیک سلول‌ها در کشت
۱۸۷	محیط کشت سلولی و خصوصیات آن
۱۸۸	ترکیب کلی محیط کشت
۱۸۸	سیستم بافری
۱۸۸	سرم
۱۸۹	آنتی‌بیوتیک‌ها
۱۸۹	پروتکل‌ها و تکنیک‌های روزمره کشت سلولی
۱۹۰	تکنیک آسپتیک و پروتکل انجام کشت سلولی خوب
۱۹۱	پروتکل‌های شمارش سلولی
۱۹۳	خطاهای مهم در شمارش سلولی
۱۹۵	پروتکل‌های ذوب کردن تیره‌های سلولی
۱۹۵	پروتکل ذوب کردن تیره‌های سلولی منجمد
۱۹۶	پروتکل‌های پاساژ سلولی
۱۹۷	پروتکل پاساژ تیره‌های سلولی چسبان
۱۹۸	پروتکل پاساژ سلول‌های نیمه‌چسبان
۱۹۹	پروتکل پاساژ تیره‌های سلولی شناور
۲۰۰	پروتکل انجماد تیره‌های سلولی
۲۰۰	انجماد اولیه
۲۰۲	روش‌های آلودگی‌زدایی
۲۰۲	اصول روش استریل کردن
۲۰۳	پروتکل بررسی مایکوپلازما با روش کشت دادن
۲۰۵	- ویروس بیماری‌زای غیرفعال شده
۲۰۵	- ویروس زنده ضعیف شده
۲۰۵	تولید ویروس‌ها

۲۰۶ رده‌های سلولی مناسب برای تولید واکسن
۲۰۷ آنتی‌بادی‌های مونوکلونال
۲۰۷ آنتی‌بادی‌های دارویی
۲۰۸ گلیکوپروتئین‌های نوترکیب دارویی ساخته‌شده در سلول‌های پستانداران
۲۰۹ اینترفرون‌ها
۲۱۳ فعال‌کننده‌های پلاسمینوژن
۲۱۴ فاکتورهای انعقاد خون
۲۱۵ فاکتور هشت (VIII)
۲۱۵ فاکتور نه (IX)
۲۱۶ اریتروپویتین
۲۱۶ چه خطراتی با تولید محصولات کشت سلولی همراه هستند؟
۲۱۶ ویروس‌ها
۲۱۷ پروتئین‌های تغییر ماهیت یافته
۲۱۷ باقی‌مانده‌های DNA سلولی
۲۱۸ ایمنی رده سلولی مورد استفاده
۲۱۸ مهندسی بافت
۲۱۸ اندام‌های مصنوعی
۲۱۹ سلول، خود به‌عنوان محصول
۲۱۹ غربالگری دارو و آزمایشات سنجش
۲۱۹ سلول‌درمانی
۲۲۰ ژن‌درمانی
۲۲۱ منابع
۲۲۳ نمایه

مقدمه

امروزه آشنایی با اصول و تکنیک‌های مختلف در زمینه تهیه مقاطع میکروسکوپی، استفاده از رنگ آمیزی‌های اختصاصی سلول و بافت، کاربرد روش‌های نوینی مانند ایمونوهیستوشیمی و ایمونوسیتوشیمی، تعیین مشخصه‌های ظاهری سلول‌ها و بافت‌ها در حالت طبیعی و نیز کشت سلول در شرایط برون‌تنی همواره یکی از مهم‌ترین ارکان مورد نیاز جهت به ثمر نشستن تحقیقات و پژوهش‌های زیستی است.

اگرچه در برخی کتب و مقالات روش انجام بعضی تکنیک‌ها به صورت خلاصه و پراکنده ذکر شده است، ولی فقدان یا کمبود منبع جامع در این زمینه و همچنین کاربرد وسیع این تکنیک‌ها در هر دو حوزه آموزشی و پژوهشی مؤلفان را بر آن داشت که به تدوین و نگارش کتابی جامع و کاربردی به منظور کمک به پژوهشگران، اساتید و دانشجویان عزیز جهت درک دقیق ساختار سلولی و چگونگی به کار بردن تکنیک‌های مهم و روتین بافت‌شناسی اقدام کنند.

یکی از نکات قابل توجه در مورد بافت‌شناسی این است که بافت‌شناسی، پیوستگی بسیار نزدیک با سایر علوم پزشکی و زیستی نظیر سیتولوژی، پاتولوژی، آناتومی، جنین‌شناسی و فیزیولوژی دارد. یادگیری جزئیات ساختاری ارگان‌ها و اعضای مختلف برای فهم فعالیت فیزیولوژیک و تغییرات پاتولوژیک آن‌ها ضروری است. برای مطالعه بافت و ارگان‌های مختلف لازم است با تکنیک‌های مختلف بافتی و سلولی آشنا باشیم.

در این کتاب علاوه بر مبحث سلول‌شناسی، به تکنیک‌های مختلف بافت‌شناسی و سلولی شامل نمونه‌گیری و مراحل مختلف آماده‌سازی بافت، رنگ آمیزی‌های عمومی و اختصاصی انواع بافت و سلول، انواع میکروسکوپ‌ها، استریولوژی، هیستوشیمی، ایمونوهیستوشیمی، کشت سلول و مهندسی بافت پرداخته شده است. بنابراین می‌توان آن را منبعی تقریباً جامع در خصوص تکنیک‌های بافتی و هیستوشیمی در نظر گرفت.

قابل ذکر است با توجه به فقدان کتاب مشابه، این کتاب می‌تواند به‌عنوان کتاب درسی در رشته‌های مختلفی که واحد درسی هیستوتکنیک و بافت‌شناسی دارند، معرفی شود و مورد استفاده دانشجویان قرار گیرد. همچنین تکنیک‌های مختلف ذکر شده مرتبط با بافت و سلول، برای انجام بخش عملیات این دروس در آزمایشگاه‌ها به‌عنوان کتاب مرجع جهت برگزاری عملیات درس، طرح‌های تحقیقاتی، پایان‌نامه‌ها و

رساله‌ها قابل بهره‌برداری است. امید است کتاب حاضر بتواند پاسخ‌گوی نیازهای آموزشی و پژوهشی مدرّسان، دانشجویان و محققان گرامی در مقاطع مختلف کارشناسی، کارشناسی ارشد و دکتری تخصصی در رشته‌های مختلف علوم زیستی شامل بافت‌شناسی و پاتولوژی پزشکی، دام‌پزشکی و پیراپزشکی باشد. از خداوند متعال سپاسگزاریم که به مؤلفان توفیق نگارش این اثر را عطا کرد تا شاید بتواند راهگشایی برای فرهیختگان، پژوهشگران و دانشجویان گرامی باشد. در پایان ضروری است یادى شود از زنده‌یاد سرکار خانم دکتر شرما تعویقی که در تدوین بخش‌هایی از این کتاب همکاری ارزنده داشتند؛ روحش شاد!

دکتر ابوالقاسم نبی‌پور

استاد بافت‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد

فرهاد محمدی قشلاق

دانشجوی دکتری تخصصی بافت‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد