بسم الله الرحمن الرحیم

دعای مطالعه

اَللهُمَ اَخرِجنی مِن ظُلُماتِ الوَهمِ وَاَکرِمنی بِنُورِ الفَهمِ
اَللهُمَ افتِح عَلَینا اَبوابَ رَحمتَکَ وَ انشُر عَلَینا خَزائِنَ عُلُومِکَ
بِرَحمَتِکَ یا اَرحَمَ الرّاحِمینَ

پروردگارا، خارج کن مرا از تاریکی های فکر و گرامی بدار به نور فهم

پروردگارا، بگشای بر ما درهای رحمتت را و بگستران گنج های دانشت را به امید رحمت

تو ای مهربان ترین مهربانان

بیایید به حقوق دیگران احترام بگذاریم

دوست عزیز، این کتاب حاصل دسترنج چندین ساله‌ی مؤلف، مترجم و ناشر آن است. تکثیر و فروش آن به هر شکلی بدون اجازه از پدیدآورنده کاری غیراخلاقی، غیرقانونی، غیرشرعی و کسب درآمد از دسترنج دیگران است، نتیجه‌ی این عمل نادرست، موجب رواج بی‌اعتمادی در جامعه و بروز پی‌آمدهای ناگوار در زندگی و محیط ناسالم برای خود و فرزندانمان می‌گردد.

الگوریتم میانبر

الگوریتم زیست‌شناسی سلولی و مولکولی

ویژه کلیه رشته‌های وزارت بهداشت،
وزرات علوم و دانشگاه آزاد

مؤلفین:

مهسا نایب‌هاشمی – حامد صمدی

سرشناسنامه	: نایب‌هاشمی، مهسا، ۱۳۶۶-
عنوان و نام پدیدآور	: میانبر الگوریتم زیست‌شناسی سلولی و مولکولی ویژه کلیه رشته‌های وزارت بهداشت ... / مولف مهسا نایب‌هاشمی، حامد صمدی.
مشخصات نشر	: تهران: گروه تالیفی دکتر خلیلی، ۱۳۹۸.
مشخصات ظاهری	: ۴۷۸ ص.
شابک	: 978-600-422-118-4
وضعیت فهرست نویسی	: فیپا
موضوع	: دانشگاه‌ها و مدارس عالی – ایران – آزمون‌ها
موضوع	: Universities and colleges – Iran -- Examinations
موضوع	: یاخته‌شناسی – راهنمای آموزشی (عالی)
موضوع	: Cytology – Study and teaching (Higher)
موضوع	: زیست‌شناسی مولکولی – راهنمای آموزشی (عالی)
موضوع	: Molecular biology – Study and teaching (Higher)
موضوع	: آزمون دوره‌های تحصیلات تکمیلی – ایران
موضوع	: Graduate Record Examination -- Iran
شناسه افزوده	: صمدی، حامد، ۱۳۶۸-
رده بندی کنگره	: LB۲۳۵۳
رده بندی دیویی	: ۳۷۸/۱۶۶۴
شماره کتابشناسی ملی	: ۴۴۴۰۸۸۲

نام کتاب: میانبر الگوریتم زیست‌شناسی سلولی و مولکولی

مؤلفین: مهسا نایب‌هاشمی- حامد صمدی

ناشر: گروه تألیفی دکتر خلیلی

نوبت و سال چاپ: دوم . ۱۳۹۸

شمارگان: ۱۵۰۰

چاپ و صحافی: پاسارگاد

مدیر تولید: اقبال شرقی

ناظر فنی چاپ: فرهاد فراهانی

مدیر فنی و هنری: مریم آرده

تایپ و صفحه‌آرایی: سمانه توکلیان

بهاء: ۸۵۰۰۰ تومان

آموزشگاه دکتر خلیلی (دفتر مرکزی): ۶۶۵۶۸۶۲۱-۰۲۱

آموزشگاه دکتر خلیلی (شعبه شریعتی): ۲۲۸۵۶۶۲۰-۰۲۱

فروشگاه: تهران – خیابان انقلاب- روبه‌روی درب اصلی دانشگاه تهران – پاساژ فروزنده – طبقه همکف – پلاک ۳۳۱

تلفن: ۶۶۴۸۹۳۷۵ – ۰۲۱ – ۶۶۴۸۹۳۴۹ - ۰۲۱

مرکز پخش: ضلع جنوب غربی میدان انقلاب– جنب سینما پارس- مجتمع تجاری پارس – طبقه اول

مرکز فروش: ۶۶۵۶۹۲۱۶ – ۰۲۱

مدیر فروش: ۵۵۰۸۵۸۹ – ۰۹۱۲

@drkhaliligroupbook **www.DKG.ir** **drkhaliligroupbook**

تقدیم به:

ساحت مقدس امام رضا و حضرت عباس (ع)

طلیعه سخن مؤلفان (چاپ اول):

خوشبختی حاصل اعتماد است (شاملو)

نگاهی به تعداد داوطلبان آزمون‌های کارشناسی ارشد و دکتری تخصصی نشان می‌دهد که در سال‌های اخیر تقاضا برای ادامه تحصیل در دوره‌های تحصیلات تکمیلی به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته است. مشکل اساسی داوطلبان، تعداد و سنگین بودن منابع معرفی شده و عدم دسترسی به منبعی مناسب برای درک بیش‌تر و بهتر مفاهیم و هم‌چنین کتابی برای جمع‌بندی و مرور در ماه‌های آخر است. با توجه به این‌که این درس برای تعداد زیادی از داوطلبان از نظر یادگیری و جمع‌بندی دشوار می‌باشد، بر خود لازم دانستیم که مجموعه‌ای کامل اما خلاصه تهیه و تدوین کنیم.

بارزترین ویژگی و نقطه قوت این کتاب، طبقه‌بندی‌های منظم و الگوریتمی آن می‌باشد که در به خاطر سپردن مطالب بسیار کمک می‌کند. هم‌چنین اکثر مطالب مهم و اصلی کتاب‌های لودیش (۲۰۱۶)، لنینجر (۲۰۱۳) و آلبرتس (۲۰۱۴) را سعی کردیم در این کتاب قرار دهیم تا انشالله گامی کوچک در یادگیری و جمع‌بندی این درس برای داوطلبین و دانشجویان گرامی برداشته باشیم.

بر خود لازم می‌دانیم از خدای متعال و از زحمات خانواده‌ی عزیزمان به‌خصوص پدر و مادر بزرگوارمان، جناب آقای دکتر احمد خلیلی و از اساتید محترم سلولی و مولکولی، جناب آقای دکتر ناصر جعفرقلی‌زاده، دکتر محسن علیپور، دکتر جواد محمدنژاد و خانم دکتر میترا بهروزاقدم و هم‌چنین از جناب آقای سجاد بزرگیان و یاسین اشراقی و سرکار خانم منا صلاح‌ورزی کمال تشکر و سپاس را داشته باشیم. از زحمات و توجه جناب آقای اقبال شرقی (مدیریت انتشارات)، سرکارخانم مریم آرده (مدیریت فنی هنری) و سرکار خانم سمانه توکلیان (خالق نوشته‌هایمان) نیز مراتب تشکر و قدردانی را داریم.

مهسا نایب‌هاشمی – حامد صمدی

طلیعه سخن مؤلفان (چاپ دوم):

درخت تو گر بار دانش بگیرد به زیر آوری چرخ نیلوفری را

در ابتدا خداوند منان را شاکرم برای ۲ چیز؛ اول برای این‌که کتابی که آن را در دست دارید و ان‌شاءالله مطالعه‌ی آن برایتان سودمند و راهگشا باشد، به چاپ دوم رسید (سعی کردیم بهتر، کامل‌تر و کم نقص‌تر گردد) و دوم این‌که در محیطی (مرکز تحقیقات فناوری بن‌یاخته) قرار گرفتم که توانستم نهال زندگی‌ام را با دانش بیش‌تری پیوند دهم.

از اساتیدی که در این مسیر همراه بوده‌اند به‌ویژه دکتر علیرضا نادری سهی، دکتر امیر علیان، دکتر وحید حق‌پناه، دکتر سیمزر حسین‌زاده، دکتر فاطمه کوهکن، دکتر سید احسان اندرامی و دکتر موسی کهتری و هم‌چنین از تمامی کارکنان و کارشناسان مرکز تحقیقات فناوری بن‌یاخته کمال قدر دانی و تشکر را دارم. جا دارد از دوستان عزیزم به ویژه آقای آرش ضیایی که در این راه باعث دلگرمی بنده بوده‌اند نیز قدردانی نمایم. راستی تا یادم نرفته خدا را به خاطر غنچه نورسیده‌ای (خواهرزاده‌ام هانا) که آن را بر من ارزانی داشته، سپاس می‌گویم.

با آرزوی سلامتی و توفیقات روزافزان برای همه اساتید، دانشجویان و مردم سرزمینم ایران. ان‌شاءالله درخت‌هایشان سایه‌ای زیبا داشته باشد.

مهسا نایب‌هاشمی – حامد صمدی

از اساتید گرامی و دانشجویان محترم خواهشمندیم در صورت وجود نواقص، انتقادات و پیشنهادات، مؤلفین را با ایمیل‌های زیر mnayebhashemi@gmail.com و Samadi.hamed68@gmail.com در جریان قرار دهند.

فهرست مطالب

فصل و عنوان **صفحه**

بخش اول: زیست‌شناسی سلولی

فصل اول: مولکول‌ها، سلول‌ها و مبانی بیوشیمیایی ۸

فصل دوم: ساختمان و عملکرد پروتئین‌ها ۲۱

فصل سوم: کشت و مشاهده‌ی سلول‌ها ۴۰

فصل چهارم: اندامک‌های سلولی ۵۰

فصل پنجم: ساختار غشای زیستی و حمل‌و نقل تراغشایی ۷۵

فصل ششم: اسکلت سلولی (سازمان‌دهی و حرکت سلولی I و II) ۱۱۶

فصل هفتم: اتصال و اجتماع سلول‌ها به‌صورت بافت ۱۴۸

فصل هشتم: انتقال پروتئین‌ها به غشاها و اندامک‌ها و ترافیک وزیکولی ۱۶۲

فصل نهم: انتقال پیام و مسیرهای پیام‌رسانی ۱۸۴

فصل دهم: چرخه‌ی سلولی و تنظیمات آن ۲۱۳

فصل یازدهم: سلول‌های بنیادی، عدم تقارن سلولی و مرگ سلولی ۲۳۸

فصل دوازدهم: سلول‌های سیستم عصبی ۲۵۶

فصل سیزدهم: ایمنی‌شناسی ۲۶۴

فصل چهاردهم: سرطان ۲۷۴

بخش دوم: زیست‌شناسی مولکولی

فصل پانزدهم: ژن‌ها و کروموزوم‌ها (ساختار و سازمان‌یابی آن‌ها) ۲۸۸

فصل شانزدهم: همانندسازی DNA ۳۲۴

فصل هفدهم: جهش، ترمیم و نوترکیبی DNA ۳۳۷

فصل هجدهم: رونویسی از ژن‌ها ۳۴۹

فصل نوزدهم: کنترل بیان ژن پس از رونویسی ۳۶۴

فصل بیستم: تولید پروتئین‌ها توسط ریبوزوم‌ها (ترجمه) ۳۸۹

فصل بیست‌ویکم: کنترل بیان ژن از طریق رونویسی (تنظیمات بیان ژن) ۴۰۹

فصل بیست و دوم: تکنیک‌های ژنتیک مولکولی (مهندسی ژنتیک) ۴۲۲

کارشناسی ارشد و دکتری تخصصی وزارت بهداشت سال تحصیلی ۹۸-۹۷

سوالات ۴۴۷

پاسخنامه ۴۷۱

بخش اول:

زیست‌شناسی سلولی

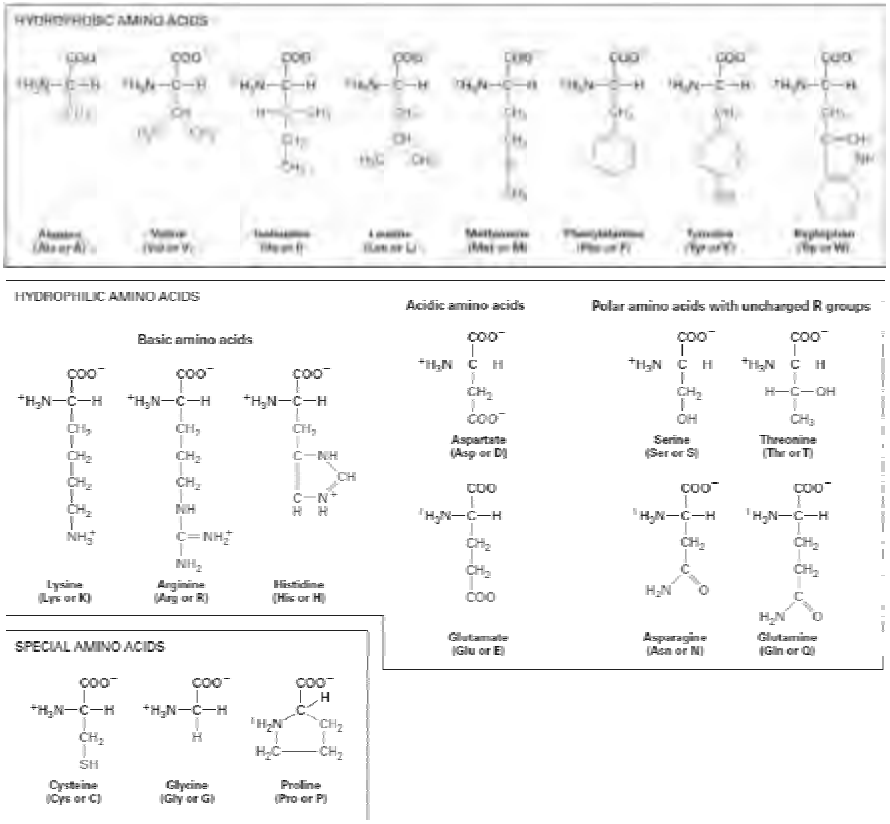
فصل اول

مولکول‌ها، سلول‌ها و مبانی بیوشیمیایی

ماکرومولکول‌های حیاتی شامل
- پروتئین‌ها
- اسیدهای نوکلئیک
- قندها (پلی‌ساکاریدها)

نکته: لیپیدها جزء بیومولکول‌ها هستند ولی جزء ماکرومولکول‌های حیاتی نیستند، زیرا از واحدهای مونومری یکسان تشکیل نشده‌اند.

پروتئین‌ها
- از واحدهای مونومری آمینو اسید ساخته شده‌اند.
- بخش مشترک تمام آمینواسیدها، یک کربن است که به سه گروه آمین، کربوکسیل و هیدروژن متصل می‌باشد و به این کربن، کربن α گویند که غیر متقارن است.
- بخش غیرمشترک (زنجیر جانبی) تمام آمینو اسیدها، گروه R نام دارد (ویژگی و شاخصه‌های هر یک از آمینواسیدها را تعیین می‌کند).



شکل ۱-۱: ۲۰ آمینو اسید رایجی که در ساختمان پروتئین‌ها قرار می‌گیرند؛ اساس دسته‌بندی آن‌ها به ۳ گروه بالا، زنجیره جانبی (گروه R) می‌باشد. در این‌جا شکل یونیزه آمینواسیدها در $pH \simeq 7$ سیتوزولی نشان داده شده و هم‌چنین در داخل پرانتز، مخففهای سه حرفی و تک حرفی هر آمینو اسید آورده شده است.

نکته
- آمینواسید فاقد کربن نامتقارن ← Gly (چون کربن نامتقارن ندارد ← فاقد فعالیت نوری)
- آمینواسیدهای دارای دو کربن نامتقارن ← ایزولوسین (ILe) و ترئونین (Thr)/ باقی آمینواسیدها ← یک عدد کربن نامتقارن دارند.

انواع آمینواسیدها براساس قطبیت گروه R
۱. R غیرقطبی آلیفاتیک (خطی) ← Pro و Ile، Leu، Val، Ala، Gly
۲. R غیرقطبی آروماتیک ← Phe و Tyr، Trp
۳. R قطبی بدون بار ← Asn و Gln، Cys، Thr، Ser
۴. R قطبی باردار
- R اسیدی (بار منفی) ← Glu و Asp
- R بازی (بار مثبت) ← His و Arg، Lys

نکات مهم آمینو اسیدها

۱. آمینو اسیدهای شاخه‌دار ← Ile – Leu – Val
۲. ایمینواسید ← پرولین
۳. آمینو اسیدهای دارای OH در R خود ← Tyr – Thr – Ser
۴. آمینو اسید دارای تیول (SH ← گروه سولفیدریل) در R خود ← Cys
۵. آمینو اسید دارای تیواتر (R- S- R) در R خود ← Met
۶. تمام آمینواسیدها دارای ایزومر نوری L و D هستند به‌جز Gly (زیرا فاقد کربن نامتقارن است).
۷. یوباکترها توانایی سنتز آمینواسیدهای ایزومر نوع D را از نوع L دارند (به‌وسیله‌ی آنزیم راسماز).
۸. آمینواسیدها در طبیعت به‌صورت ایزومرهای D و L هستند (ایزومر L شکل غالب در طبیعت).
۹. آمینواسیدهای (در انسان و سایر پستانداران)
a) ضروری (His و Lsy، Leu، Met، Ile، Trp، Thr، Val، Phe)
- غیرقابل سنتز در بدن (۹ تا)
- باید در رژیم غذایی باشند تا تولید پروتئین‌ها در بدن به طور طبیعی صورت گیرد.
b) غیرضروری (قابل سنتز در بدن) ← سایر آمینواسیدها (۱۱ تا)
۱۰. فراوانی آمینواسیدها در پروتئین‌ها
- غیر رایج (حدود ۵ درصد) ← Met و Trp، Cys
- فراوان‌ترین (۳۲ درصد) ← Glu و Lys، Ser، Leu
توجه: با این وجود، ترکیب پروتئین‌های خاصی (ریشه‌های آمینواسیدی) ممکن است با این مقادیر بسیار متفاوت باشد.

نکته: در جدول زیر می‌توانید، تعداد کدون‌های هر آمینواسید در بدن را مشاهده کنید.

جدول ۱-۱

Degeneracy of the Genetic Code

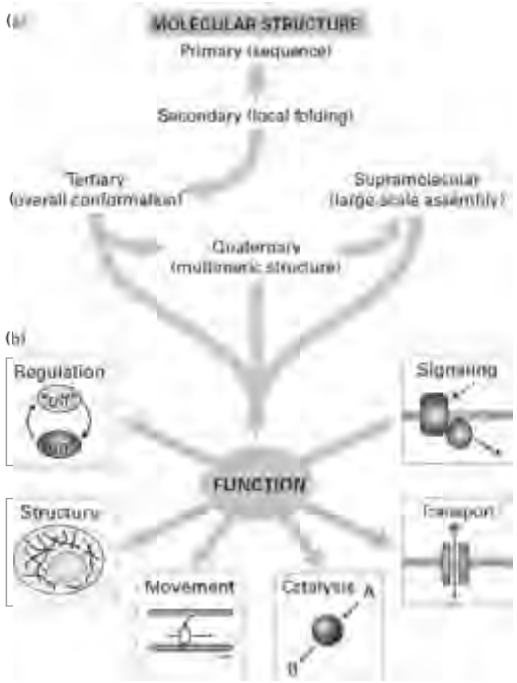
Amino acid	Number of codons	Amino acid	Number of codons
Met	1	Tyr	2
Trp	1	Ile	3
Asn	2	Ala	4
Asp	2	Gly	4
Cys	2	Pro	4
Gln	2	Thr	4
Glu	2	Val	4
His	2	Arg	6
Lys	2	Leu	6
Phe	2	Ser	6

(کدون ← توالی سه نوکلئوتیدی کدکننده‌ی نوعی آمینواسید است).
۱۱. بلندترین پروتئین شناخته شده ← پروتئین تیتین
۱۲. وزن مولکولی آمینواسیدها 128D است اما وقتی در ساختار زنجیره پلی‌پپتیدی قرار می‌گیرند، وزن میانگین آن 113D در نظر گرفته می‌شود که علت این اختلاف، خروج یک مولکول آب در هنگام تشکیل پیوند پپتیدی است.
۱۳. کوچک‌ترین آمینواسید در بدن ← Gly
۱۴. آمینواسیدهای ناپایدار کننده مارپیچ آلفا (α – helix)
- Gly ← عمدتاً در محل تاخوردگی‌های بتا (β – turn) یافت می‌شود.
- Pro
۱۵. سازگارترین آمینواسید برای حضور در مارپیچ α ← Ala

فصل دوم

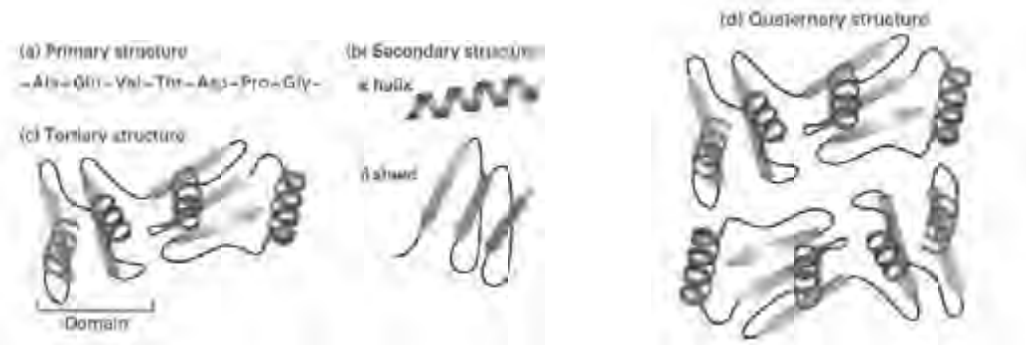
ساختمان و عملکرد پروتئین‌ها

پروتئین‌ها پلی‌مرهای خطی از آمینواسیدها هستند که توسط پیوندهای پپتیدی به یکدیگر متصل می‌شوند. یک پروتئین می‌تواند یک یا چندین زنجیره پلی‌پپتیدی داشته باشد. ساختار اولیه یک زنجیره پلی‌پپتیدی از توالی آمینواسیدهایی که با اتصال کووالان به هم متصل شده‌اند، به وجود آمده است. برهم‌کنش‌های گوناگون (اکثراً غیرکووالانسی) بین آمینواسیدها در توالی خطی، سبب پایدار شدن یک ساختار سه‌بعدی تاخورده خاص (Conformation) در هر پروتئینی می‌گردد.



شکل ۱-۲: a) مروری بر ساختار و عملکرد پروتئین‌ها؛ ساختار پروتئین‌ها دارای سلسله مراتبی است. توالی خطی از آمینواسیدها در یک پلی‌پپتید توسط پیوندهای پپتیدی به یکدیگر متصل شده (Primary Structure) و به صورت مارپیچ‌ها (helices) یا صفحات (Sheets) موضعی تا می‌خورند (Secondary Structure) که به شکل یک کمپلکس سه بعدی بسته‌بندی می‌شوند (Tertiary Structure). بعضی از پلی‌پپتیدهای منفرد به‌صورت کمپلکس‌های چند زنجیره‌ای تجمع می‌یابند (Quaternary Structure)، که آن‌ها در برخی موارد می‌توانند بسیار بزرگ بوده و حاوی ده‌ها تا صدها زیرواحد باشند (Supramolecular Complexes).

b) پروتئین‌ها عملکردهای زیادی شامل سازمان‌دهی ژنوم، اندامک‌ها، سیتوپلاسم، کمپلکس‌های پروتئینی و غشاها در فضای سه‌بعدی (Structure)؛ کنترل فعالیت پروتئین (Regulation)؛ تنظیم و کنترل محیط و انتقال اطلاعات (Signaling)؛ عبور دادن مولکول‌های کوچک و یون‌ها از عرض غشاها (Transport)؛ کاتالیز واکنش‌های شیمیایی (Via Enzymes) و تولید نیرو برای حرکت (Via motor proteins) برعهده دارند. این عملکردها و سایر فعالیت‌های دیگر ناشی از برهم‌کنش‌های اتصالی اختصاصی و تغییرات کانفورماسیونی در ساختار پروتئین‌هایی است که به‌طور صحیح تاخورده‌اند.



شکل ۲-۲: چهار سطح ساختاری سلسله مراتبی پروتئین؛ a) توالی خطی از آمینواسیدهایی که توسط پیوندهای پپتیدی به هم متصل شده و ساختار اول را ایجاد می‌کنند. b) تاخوردن زنجیره پلی‌پپتیدی به‌صورت مارپیچ‌ها یا صفحات β موضعی، نشان دهنده‌ی ساختار دوم است. c) عناصر ساختار دوم همراه با حلقه‌ها (loops) و پیچ‌های (turns) مختلف در یک زنجیره پلی‌پپتیدی به‌صورت ساختاری پایدار، بزرگ‌تر و مستقل تجمع می‌یابند (ساختار سوم) که ممکن است شامل دُمین‌های مجزا باشد. برخی پروتئین‌ها که شامل بیش از یک پلی‌پپتید هستند (حاصل مشارکت پلی‌پپتیدها با ساختارهای سوم)، در یک ساختار چهارم با یکدیگر مرتبط شده‌اند.

ساختار دوم پروتئین
- رایج‌ترین عناصر
  - α – helix
  - β – strand
  - β – sheet
  - β – turn
- پایداری ساختارها ← از طریق پیوندهای هیدروژنی

نکته: ترکیبات منظم و خاصی از ساختارهای دوم پروتئین‌ها، منجر به تشکیل موتیف‌های ساختاری می‌گردد که در پروتئین‌های مختلفی یافت می‌شوند و اغلب با عملکردهای خاصی همراه هستند.

ساختار سوم پروتئین
- بر اثر تاخوردگی ساختار دوم به‌صورت یک آرایش سه بعدی کلی ایجاد می‌شود.
- حاصل برهم‌کنش‌های آب‌گریز بین
  - گروه‌های جانبی غیرقطبی
  - و
  - پیوندهای هیدروژنی
- حاصل برهم‌کنش‌های یونی بین
  - گروه‌های جانبی قطبی
  - و
  - اسکلت پلی‌پپتیدی (polypeptide backbone)

نکته: پروتئین‌ها اغلب حاوی دُمین‌های مجزایی هستند که به‌طور مستقل تا می‌خورند و ساختار، عملکرد و شاخصه‌های توپولوژیکی ویژه‌ای دارند. هم‌چنین به هم پیوستن دُمین‌ها به‌عنوان واحدهایی در پروتئین‌های مختلف در طی تکامل، منجر به ایجاد تنوع در ساختار و عملکرد پروتئین‌ها شده است.

درباره دُمین‌ها
- مُدل و نمونه‌هایی از ساختار سوم پروتئین‌ها می‌باشند (نواحی مشخص و مجزا)
- سه کلاس عمده دارند
  ۱. عملکردی (Functional) ← ناحیه‌ای از پروتئین که نشان‌دهنده‌ی فعالیت خاص آن است (معمولاً با جدا شدن از بقیه پروتئین هم عملکرد و فعالیت دارند)؛ مثل: کیناز دُمین
  ۲. ساختاری (Structural) ← ناحیه‌ای با طول حدود ۴۰ آمینواسید یا بیش‌تر می‌باشد که به‌صورت ساختاری منفرد، پایدار و مجزا آرایش یافته و اغلب دارای یک یا چند ساختار دوم هستند؛ مثل: دُمین فاکتور رشد اپیدرمی (Epidermal Growth Factor= EGF)
  ۳. توپولوژیکی (Topological) ← نواحی از پروتئین‌ها که توسط ارتباطات فضایی جداگانه‌هایشان از بقیه پروتئین مشخص می‌شوند، از این نوع می‌باشند؛ مثل: دُمین‌های سیتوپلاسمیک، دُمین‌های گذرنده از غشا و دُمین‌های خارج سلولی

فصل سوم

کشت و مشاهده‌ی سلول‌ها

برای مشاهده سلول‌ها و ساختارهای زیرسلولی (Subcellular)، بافت‌ها معمولاً باید تثبیت (Fixed)، برش‌گیری (Sectioned) و رنگ‌آمیزی (Stained) گردند.

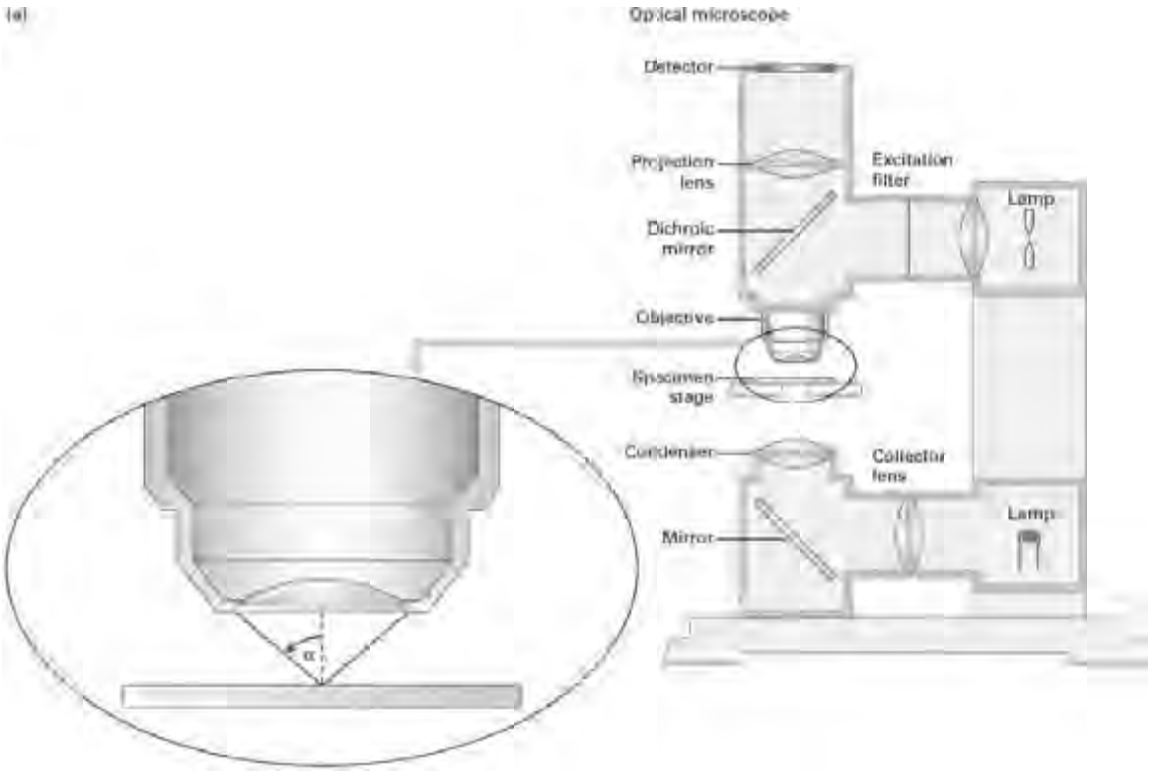
میکروسکوپ‌ها

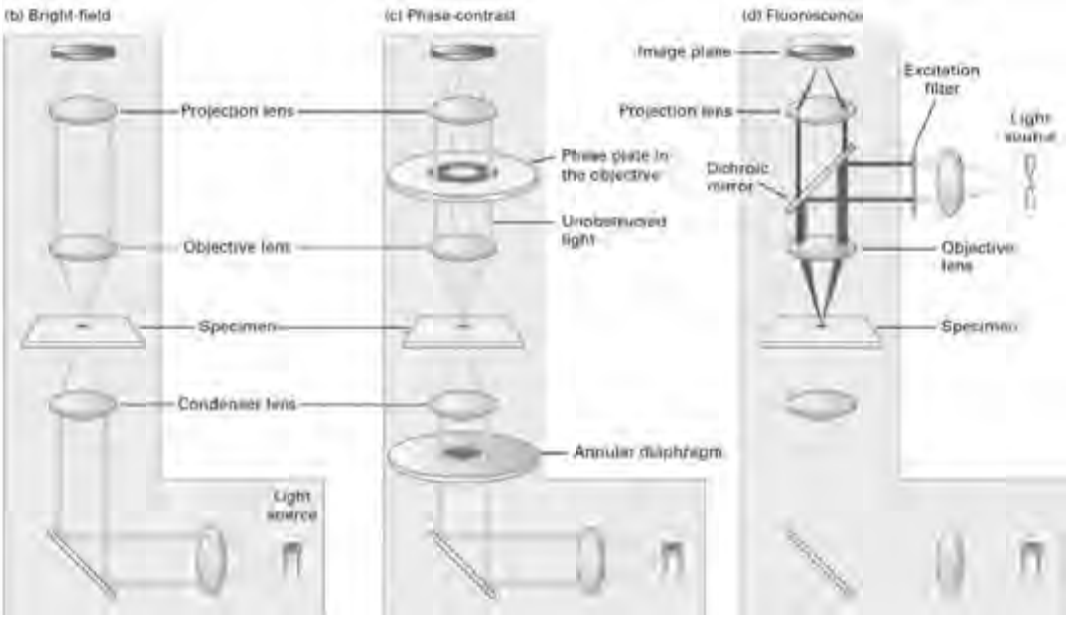
مهم‌ترین ویژگی یک میکروسکوپ بزرگ‌نمایی آن نیست، بلکه قدرت تفکیک یا حد تفکیک آن است. حد تفکیک عدسی یک میکروسکوپ از نظر عددی برابر با D می‌باشد و هر چقدر D کوچک‌تر باشد، حد تفکیک بهتر است. قدرت تفکیک میکروسکوپ نوری تقریباً برابر ۰/۲ میکرومتر (۲۰۰ نانومتر) می‌باشد.

میکروسکوپ‌های نوری (Optical microscopes) به سه دسته تقسیم می‌شوند:

۱. زمینه روشن (bright- field) ← منبع نوری ← یک لامپ تنگستن
۲. فاز متضاد یا اختلاف فاز (phase- contrast) ← منبع نوری ← عبور نور از درون یک دیافراگم حلقوی (Annular diaphragm)
۳. فلورسانس (Fluorescence) ← منبع نوری ← یک لامپ جیوه

در میکروسکوپ الکترونی نگاره یا SEM، ویژگی‌های سطح سلول و بافت‌ها به صورت سه بعدی قابل بررسی هستند. در میکروسکوپ الکترونی گذاره یا TEM از الکترون‌های گذرنده از نمونه برای ایجاد تصویر و تعیین ساختمان دقیق و اندامک‌های سلولی استفاده می‌شود.





شکل ۱-۳: a.یک میکروسکوپ نوری معمولی؛ b، c و d به ترتیب نشان دهنده‌ی میکروسکوپ‌های Bright- Field، Phase- Contrast و Fluorescence هستند.

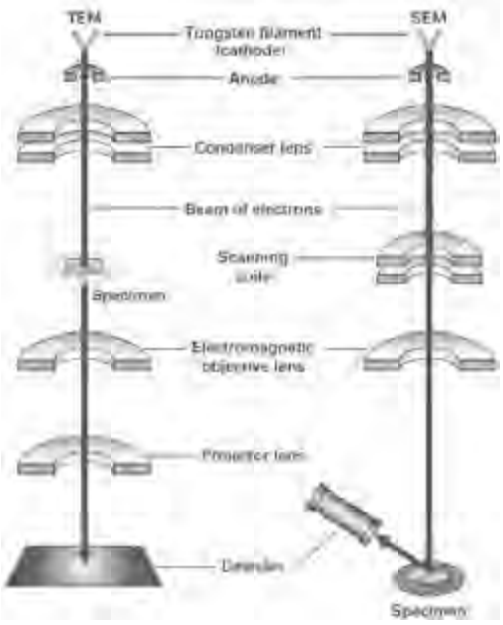
میکروسکوپ الکترونی خود به دو دسته تقسیم می‌شود

(سلول زنده نیست، به دلیل استفاده و عبور پرتوهای الکترون از نمونه)

۱. میکروسکوپ TEM
- قدرت تفکیک ۰/۱ نانومتر است
- در این روش نمونه‌های مورد بررسی باید تثبیت (fixation)، آبگیری (توسط الکل)، قالب‌دهی و برش‌گیری شوند و در آخر توسط فلزات سنگین رنگ‌آمیزی شوند (رنگ‌آمیزی منفی)

۲. میکروسکوپ SEM
- فقط تصاویر از سطح شیء (تهیه تصاویر سه بعدی) و برای مشاهده نمونه‌های ضخیم از آن استفاده می‌شود.
- قدرت تفکیک 10nm است.
- می‌توان نمونه‌های برش‌گیری نشده پوشیده شده با فلز را بررسی کرد.

توجه: در میکروسکوپ TEM و SEM، سلول و نمونه مورد بررسی زنده نمی‌باشند.



شکل ۲-۳: در میکروسکوپ‌های الکترونی TEM و SEM، تصاویر از الکترون‌هایی ساخته می‌شوند که به ترتیب یا از درون نمونه (Specimen) عبور کنند (TEM) و یا توسط یک نمونه پوشیده از فلز پراکنده گردند (SEM).

گروه تألیفی دکتر خلیلی

درباره‌ی انواع دیگری از میکروسکوپ‌ها

میکروسکوپ زمینه تاریک (Dark field)
- اساس آن براساس پراکنش نور است (جسم درخشان در زمینه تاریک)
- برای مشاهده حرکت اسپیروکتال‌ها و باکتریوفاژها است.
- قدرت تفکیک آن ۲۰ نانومتر یا ۰/۰۲ میکرون است.

میکروسکوپ فلورسنس
- مشاهده جسم درخشان در زمینه‌ی تاریک
- قدرت تفکیک آن ۰/۱ میکرون است
- توانمندترین و قدرتمندترین تکنیک برای مکان‌یابی پروتئین‌ها در سلول
- رنگ‌آمیزی فلورسنت صورت می‌گیرد.

توجه: در میکروسکوپی فلورسنس از ترکیباتی استفاده می‌شود که نور را در یک طول موج جذب و در یک طول موج بلندتری ساطع می‌کنند.

میکروسکوپ ایمونوفلورسانس ← امکان مکان‌یابی (Localization) پروتئین‌های خاص در سلول‌های تثبیت شده (Fixed cells) (با استفاده از آنتی‌بادی)

میکروسکوپ فاز- کنتراست یا متضاد (DIC)
- اساس آن خروج نور در فازهای مختلف است.
- کاربرد آن برای مشاهده ساختمان سلول، تغییرات ساختاری سلول مثل فاگوسیتوز و فعالیت‌های پویای سلول است
- اغلب برای سلول‌های زنده به کار می‌رود.
- به کمک میکروسکوپ اختلاف فاز می‌توان سلول‌های منفرد یا لایه‌های نازک سلولی را دید
- برای بافت‌های ضخیم مناسب نیست.
- در بررسی مکان و حرکت اندامک‌های بزرگ‌تر در سلول‌های زنده کارآمد است.

میکروسکوپ اختلاف تداخلی افتراقی
- براساس تداخل بین نورهای قطبیده است.
- روش انتخابی برای مشاهده جزئیات کوچک می‌باشد.
- به آسانی می‌توان اندامک‌های بزرگی مثل هسته و واکوئل‌ها و اسپور و دیواره سلول و گرانول‌ها را مشاهده کرد.

نکته: با استفاده از میکروسکوپی فاز-کنتراست و (direct-interference-Contrast (DIC، می‌توان از تفاوت ضریب شکست برای مشاهده بخش‌هایی از سلول‌های منفرد استفاده کرد.

میکروسکوپ کرایو الکترونی
- بررسی ساختار ۳ بعدی پروتئین
- در این روش ← نمونه بزرگ و پیچیده است.
- در این روش ← امکان کریستاله کردن وجود ← ندارد.

میکروسکوپ فلورسنس STED (تخلیه نشر تحریکی)
- تفکیک دو ماده‌ی ۶ فلورسنت تا حد 200nm
- مشاهده وزیکول‌ها در سلول‌های عصبی
- شناسایی و مطالعه پروتئین‌های فلورسنت واحد در غشاهای اندامک‌های تخلیص شده

میکروسکوپ فلورسنس انعکاسی درونی کلی (TIRF) ← امکان مشاهده نمونه‌های فلورسنت مجاور لامل را با وضوح بالا فراهم می‌کند.

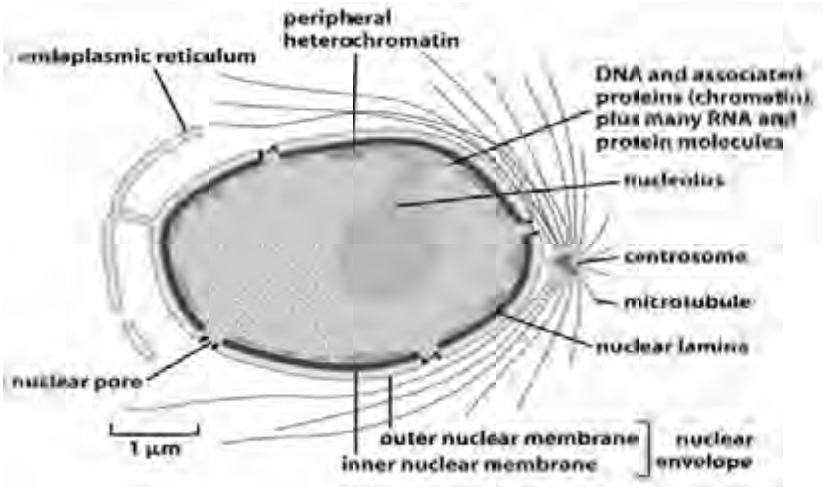
کشت سلولی و چند روش آزمایشگاهی

۱. سلول‌های جانوری جدا شده به‌طور معمول در یک مایع غنی از مواد غذایی قرار داده می‌شوند که محیط کشت (Culture medium) نام دارد. این مایع در ظرف‌ها یا فلاسک‌های پلاستیکی با پوشش خاصی قرار داده می‌شوند. اغلب برای کاهش احتمال آلودگی‌های باکتریایی و قارچی (bacterial or fungal contamination)، آنتی‌بیوتیک‌هایی به محیط کشت اضافه می‌گردد.

موارد که باید در محیط‌های کشت سلول‌های جانوری وجود داشته باشند
- ۹ آمینواسید (همگی نیاز دارند) ← His و Lys، Leu، Met، Ile، Phe، Val، Thr، Trp
- ۳ آمینواسید (اکثراً نیاز دارند) ← Arg و Tyr، Cys
- گلوتامین (Gln) ← منبع نیتروژن
- ویتامین‌ها و Various Salts
- اسیدهای چرب
- گلوکز
- سِرُم که شامل
  - هورمون پلی‌پپتیدی انسولین
  - ترانسفرین
  - تعداد زیادی فاکتورهای رشد

فصل چهارم

اندامک‌های سلولی



شکل ۱-۴

هسته
- بزرگ‌ترین ارگانل سلولی
- واجد ۲ غشا
- ER دور آن را فراگرفته است.
- محل ذخیره اطلاعات ژنتیکی و مرکز کنترل سلول یوکاریوتی است.
- معمولاً هر سلول واجد ۱ هسته است.
- اما
  - برخی از سلول‌ها واجد بیش از ۱ هسته
    - سلول‌های کبدی
    - سلول‌های بازیدیومیست
    - سلول‌های لایه مغذی پرچم گیاهان
  - سلول‌های چند هسته‌ای ← پلی کاریون

پلی‌کاریون به ۲ گروه تقسیم می‌شود
۱. سلول‌های چند هسته‌ای کاذب
- در این سلول‌ها
  - یک هسته وجود دارد.
  - اما این هسته خود چند بخشی است.
  - بخش‌های مختلف آن از طریق رشته‌هایی متصل به هم است و چند هسته‌ای به نظر می‌رسند
- مثال
  - WBC چند هسته‌ای مثل نوتروفیل
  - استئوکلاست ← ماکروفاژهای بافت استخوان
  - غده‌های سازنده‌ی تار در کرم ابریشم
  - سلول‌های آبکش بالغ گیاهی