

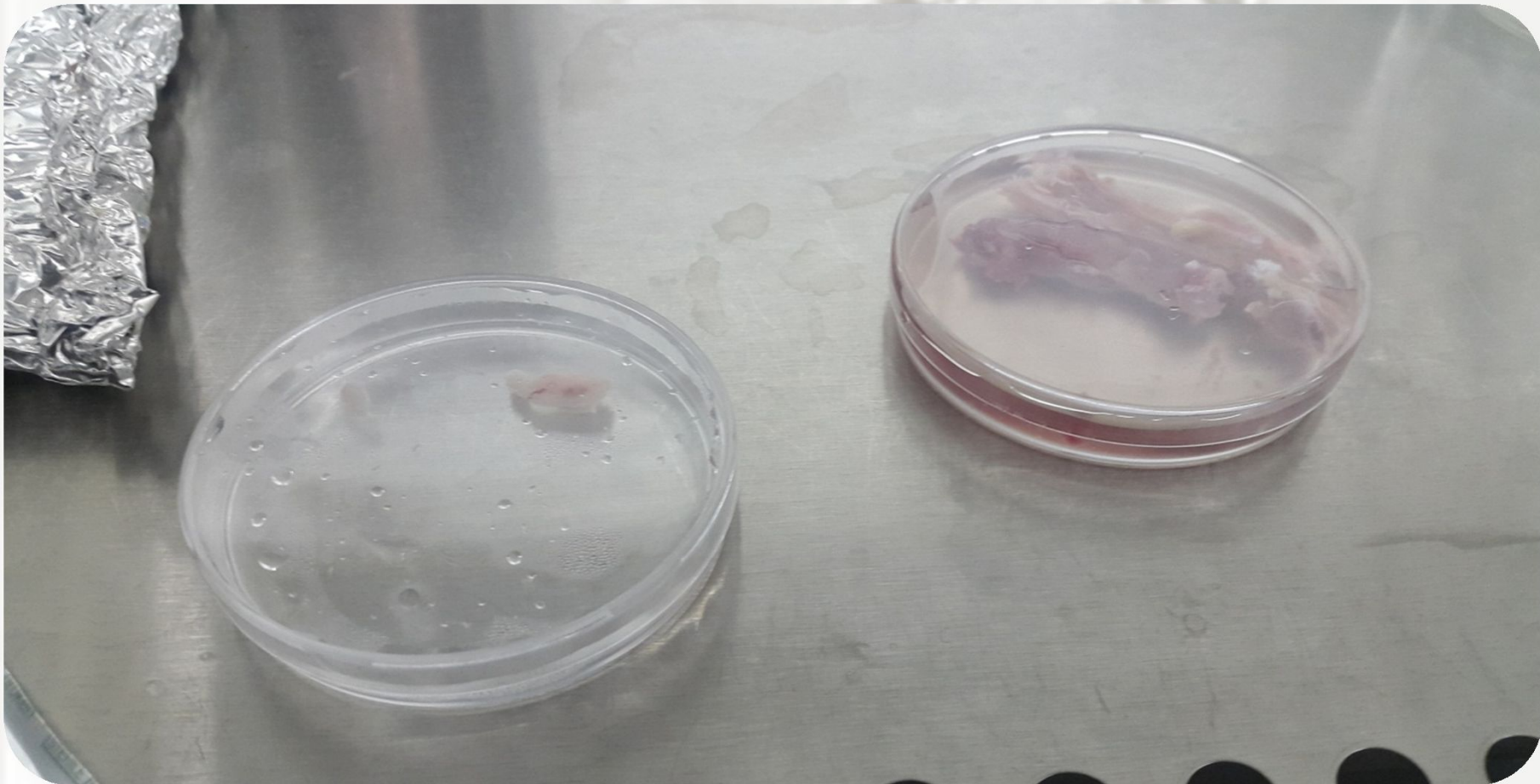


کشت سلول های چربی و مغز استخوان موش رت

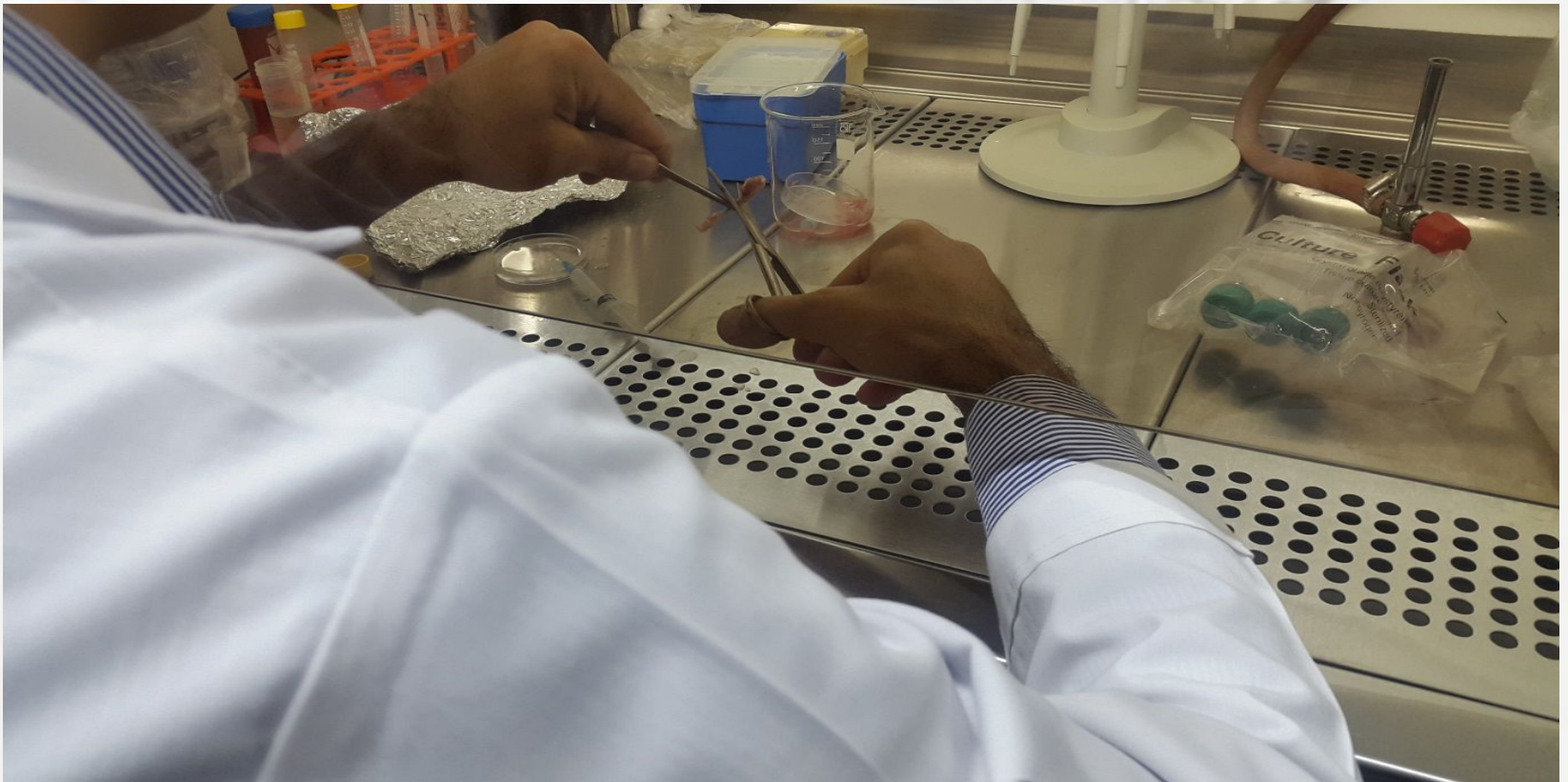


روش کار:

ابتدا موش را با استفاده از کلروفوم بیهوش میکنیم. سپس پوست سر موش را کنده و چربی زیر پوست را جدا می کنیم، استخوان پای موش را نیز جدا کرده و در پتری دیش که حاوی **pbs** که سرم نمکی است، قرار می دهیم.



برای جدا کردن مغز استخوان پای موش را جدا کرده گوشت ها را
کنده و استخوان درشت نی را در ظرف PBS قرار میدهیم.
توجه: ناحیه ی مفصلی باید سالم باشد.



روش استخراج مغز استخوان از استخوان درشت نی موش

دو طرف استخوان رابه وسیله ی قیچی میزنیم سپس بایک سرنگ که حاوی pBs است از حفره وسط استخوان تزریق میکنیم تا سلول هایش خارج شود و وارد لوله ی فالكوم شود .

محتویات لوله را سانتریفوژ میکنیم ۱۵۵۰ دور به مدت ۵ دقیقه

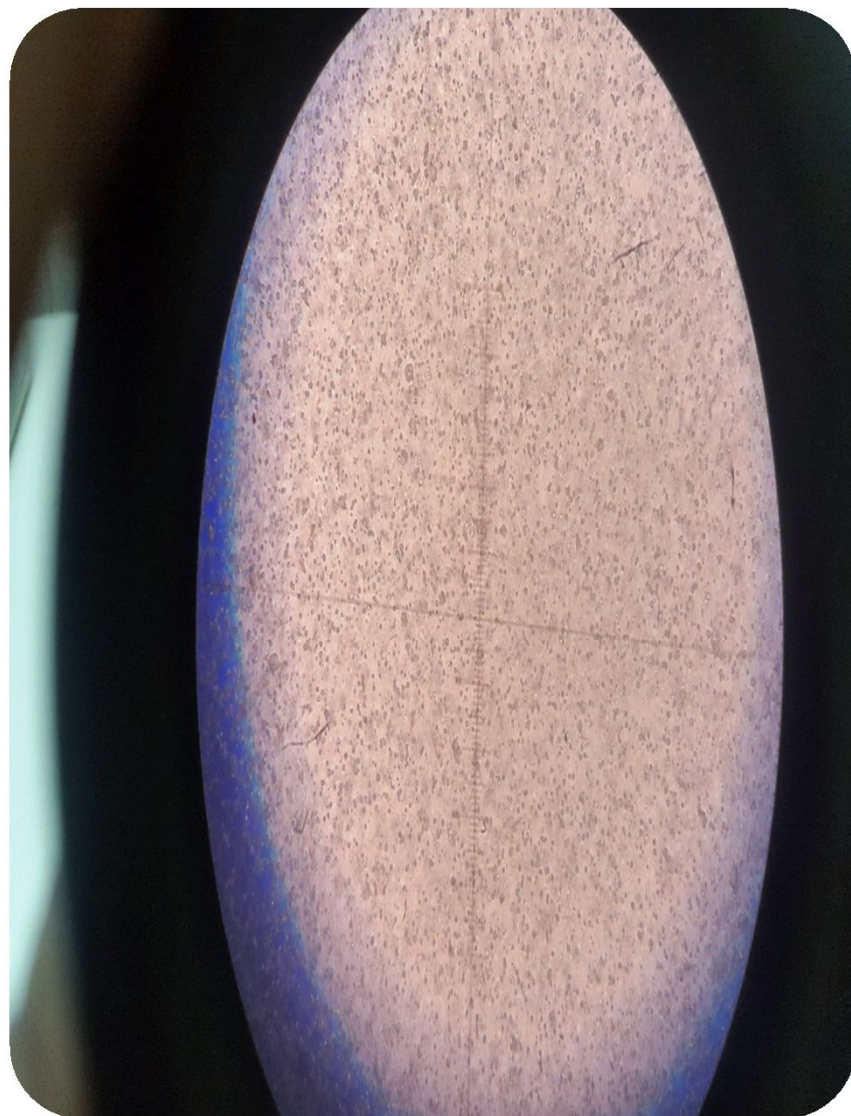


بعد از سانتریفوژ مغز استخوان محلول بالای آن را
خالی میکنیم ۳ امل محیط کشت به باقی مانده مغز
استخوان در ته ظرف اضافه کرده و ترکیب میکنیم
و داخل فلاکس می ریزیم.
سپس داخل انکوباتور قرار میدهیم.





تصویر یک هفته پس از کشت



تصویر بلافاصله بعد از کشت

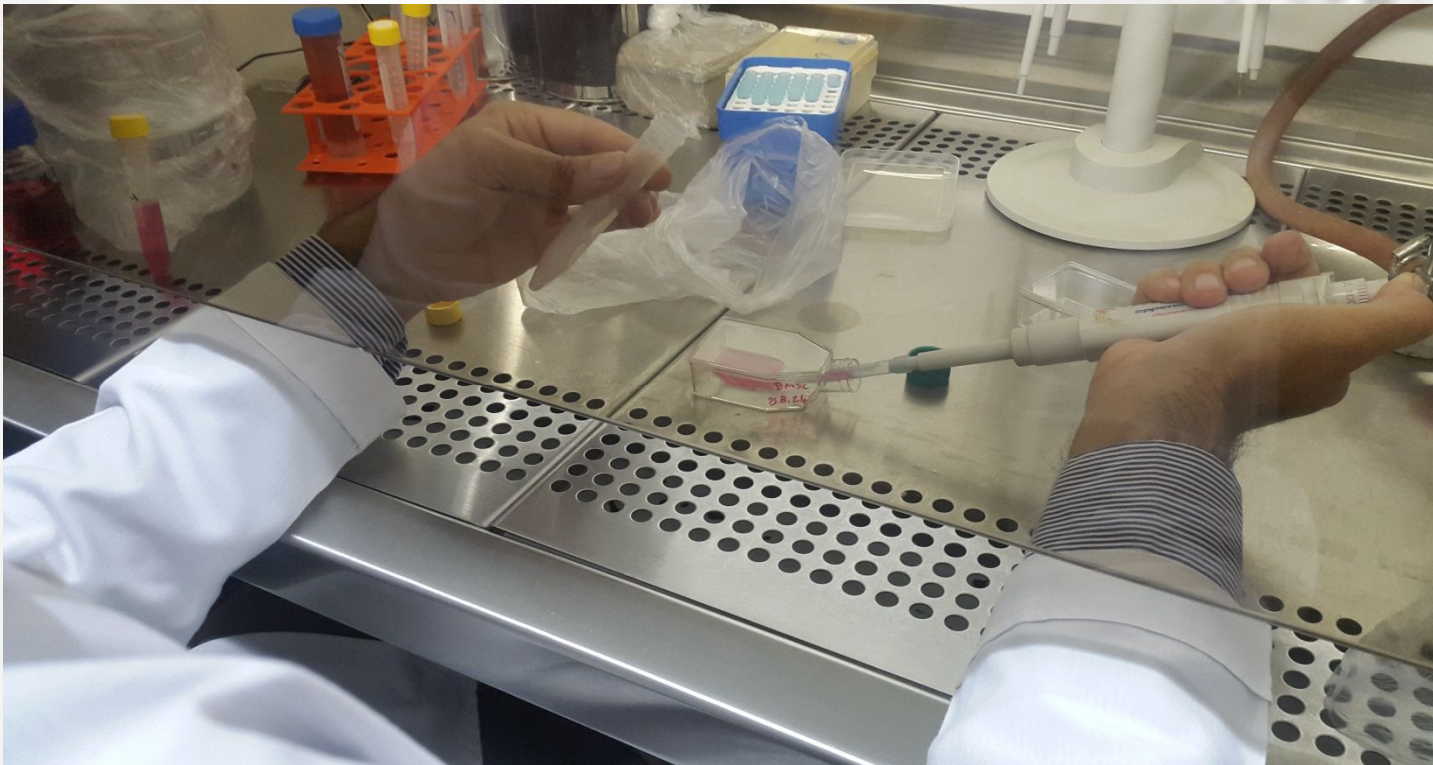
روش استخراج سلول چربی از بافت

چربی

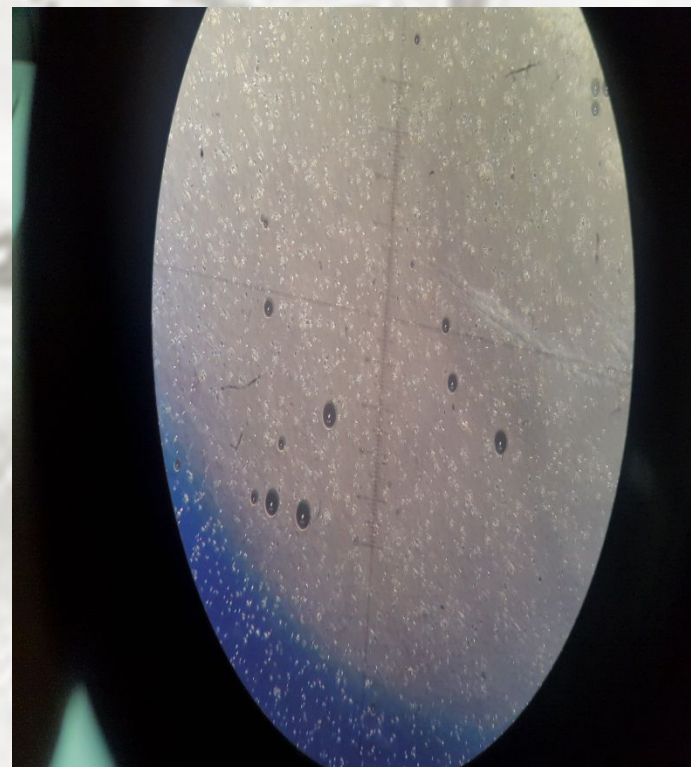
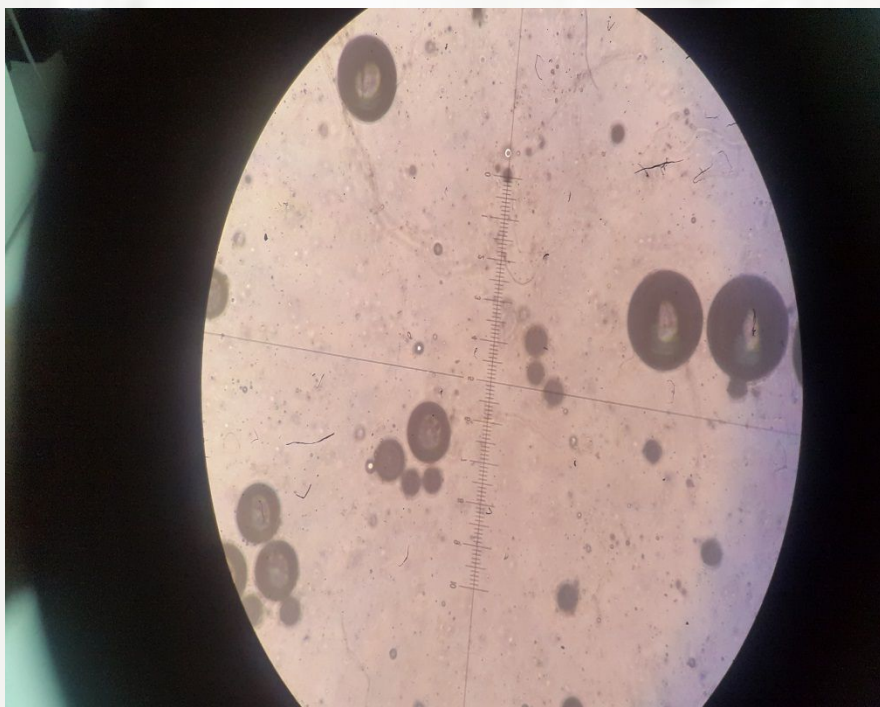
ابتدا چربی جدا شده از موش را با لبه ی تیز کاردک له میکنیم از روش حذف مکانیکی برای از بین بردن کلاژناز استفاده میکنیم. در مرحله ی بعد حذف شیمیایی با استفاده از آنزیم کلاژناز انجام میشود. پس از ریختن آنزیم روی بافت چربی ۲ تا ۱۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه قرار میدهیم.

کشت سلول چربی

بعد از خارج کردن لوله حاوی چربی از انکوباتور هم حجم آن محیط کشت آلفا مل اضافه میکنیم و در سانتریفوژ با سرعت ۱۵۷۰ دور به مدت ۵ دقیقه قرار می دهیم. بعد از اتمام سانتریفوژ محلول بالایی را دور می ریزیم و به باقی مانده ی آن محیط کشت آلفا مل اضافه میکنیم و محتویات را داخل فلاکس می ریزیم.

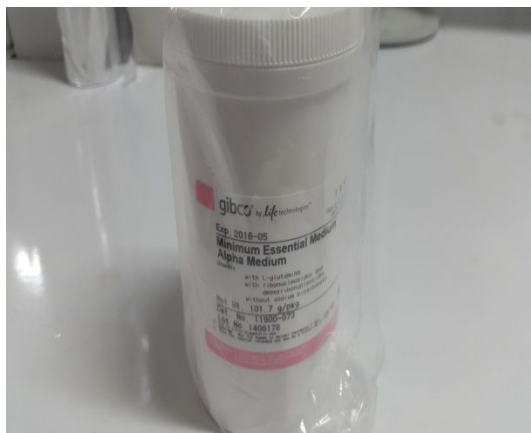


ظاهر سلول ها در یک هفته بعد از کشت به ته ظرف می چسبد تغییر میکند.
این فلاکس ها باید پاساژ داده شده تاجاهای خالی باسلول پر شود. چون رشد میکنند باید از کف ظرف
جدا و وارد فلاکس کشت شوند که به عنوان پاساژ اول است.
در اینجا سلول های چربی را داریم که سمت چپ بدون پاساژ دادن و سمت راست پاساژ داده شده است.



طرز درست کردن محیط کشت آلفا مل





آلفا-MEM

2/54 g.....medium MEM-1

0/55 gNaHco-2

3- ۱۰ درصد peniciline/stereptomycin

250 cc.....water-4

محیط کشت نیازمند فیلتر شدن است.



پاساژ سلولی

ابتدا محتویات فلاکس را خارج می کنیم سپس pbs به آن اضافه میکنیم و شستشو میدهیم تا هیچ آلفاملی باقی نماند سپس تریپسین اضافه میکنیم تا سلول ها را جدا کند ،بعد از اضافه کردن تریپسین باید سریع پاساژ دهیم .پیت را به ایزو پیت وصل می کنیم و به طور دایم محتویات فلاکس را ترکیب میکنیم تا سلول ها از کف فلاکس جدا شود.سپس هم وزن آن آلفامل اضافه کرده سانتریفیوژ میکنیم .دوباره محتویات را خالی میکنیم و مجدد آلفا مل اضافه کرده سپس محتویات را در دوفلاکس می ریزیم.

