Archive of SID

بسمه تعالی

گزارش نهایی طرح

مقایسه روش های مختلف تولید سلول های لنفوبلاستوئیدی

کد طرح مصوب جهاد دانشگاهی: ۲۰-۳۰۰۴

کد مصوب کمیته اخلاق در پژوهش:

IR.ACCER.ROYAN.REC.1396.95

مسئول اجرای طرح: دکتر پروانه فرزانه

واحد سازمانی مجری: مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران

گروه پژوهشی: بانک سلول های انسانی و جانوری

ماه و سال اختتام طرح: مرداد ۱۳۹۷

www.SID.ir

Archive of SID

مشخصات همکاران طرح

ردیف	نام و نام خانوادگی	مسئولیت در طرح	تخصص	وابستگی سازمانی	جمع کل نفر ساعت همکاری در طرح
۱	پروانه فرزانه	مجری	ایمونولوژی	مدیر بانک سلول های انسانی و جانوری	۵۷۶
۲	سید ابوالحسن شاهزاده فاضلی	مشاور و همکار طرح	ژنتیک مولکولی	رئیس مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران	۵۷۶
۳	منصوره فرهنگ‌نیا	همکار طرح	دانشجوی دکترای اپیدمیولوژی	مدیر اداره پژوهشی- مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران	۲۸۸
۴	شیوا محمدی	همکار طرح	دانشجوی دکترای زیست شناسی- ژنتیک	کارشناس بانک سلول های انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران	۲۸۸
۵	مهرناز ایزدپناه	همکار طرح	دانشجوی دکترای علوم سلولی کاربردی	کارشناس بانک سلول های انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران	۵۷۶
۶	معصومه اسدی	همکار طرح	زیست شناسی علوم جانوری	کارشناس بانک سلول های انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران	۵۷۶
۷	سپیده آشوری	همکار طرح	دکتری دامپزشکی ، دانشجوی دکترای بیولوزی تولید مثل	کارشناس بانک سلول های انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران	۴۸۰
۸	زهرا الیاسی گرجی	همکار طرح	دانشجوی دکترای بیوفیزیک	کارشناس بانک سلول های انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران	۵۷۶
۹	هدیه رحمتی	همکار طرح	میکروبیولوژی	کارشناس بانک سلول های انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران	۴۸۰
۱۰	سمانه محمود اقدم	همکار طرح	زیست شناسی سلولی و مولکولی	کارشناس بانک سلول های انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران	۴۸۰

www.SID.ir

Archive of SID

تقدیر و تشکر:

از کلیه همکاران محترم بانک سلولی انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران و دیگر بخشهای مرکز که در به انجام رسیدن این طرح همکاری داشته اند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

www.SID.ir

Archive of SID

چکیده فارسی

اهداف : رده های لنفوبلاستوئیدی تولید شده به کمک ویروس EBV می توانند مهمترین روش نگهداری نمونه DNA انسانی بدون نمونه‌گیری مجدد، همچنین منبعی برای مطالعات نقشه پروتئوم، بیماریهای ژنتیکی عصبی، مسیرهای متابولیک، بررسی جهش های اسپلایسینگ RNA، نمونه های کنترل انواع مطالعات ژنتیکی، تولید آنتی بادی مونوکلونال و تولید سلولهای پرتون القایی به حساب آیند. روشهای مختلفی برای تولید این رده ها با گزارش نرخ موفقیت متفاوت به کار برده شده است. هدف از این مطالعه مقایسه چهار روش مختلف برای یافتن بهترین روش برای کاهش هزینه و زمان همراه با افزایش نرخ موفقیت تولید رده با شرایط آزمایشگاهی بانک سلولی بوده است.

روش مطالعه: برای هر روش ۳۰ نمونه خونی مطابق شرایط استاندارد بانک سلولی تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند. در گروه اول سلولهای تک هسته ای خون جدا و با ویروس EBV مواجه شد. درگروه دوم سلول های تک هسته ای خون جدا و با محیط فریز شامل ۹۰٪ FBS و ۱۰٪ DMSO فریز شد و بعد از حدود دو ماه سلول ها دفریز شده و با ویروس مورد نظر مواجه شدند. درگروه سوم خون کامل فریزشد و سپس دفریز شده و با ویروس مواجه شد. درگروه چهارم خون کامل ابتدا، یک بار با محیط کشت شستشو داده و سپس با ویروس مجاورت داده شد. در انتها نرخ تولید موفق رده سلولی، هزینه و زمان و امکان دستورزی تعداد بیشتر نمونه با امکانات محدود مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

نتایج: تولید سلول های لنفوبلاستوئیدی با هر چهار روش امکان پذیر بود. اما نتایج نشان داد تولید لنفوبلاستوئیدها در نمونه های خون کامل نسبت به نمونه های سلولهای تک هسته ای خون محیطی جدا شده با تفاوت معنی داری کمتر است که می توان گفت حضور سایر اجزا خون محیطی مانند گلبول های قرمز، بر روند تولید رده های لنفوبلاستوئیدی تاثیر منفی دارد. از سویی بین دو روش PBMCهای تازه و PBMCهای فریز شده تفاوت معنی داری مشاهده نشد . بنابراین انجماد به کار رفته برای PBMC در این تحقیق، اثرمنفی معنی داری بر روند تولید لنفوبلاستوئید نداشته است. با توجه به نتایج حاصل شده ترانسفورم کردن PBMC ها به صورت مستقیم یا به صورت فریز شده با بازده بیشتری همراه بوده است و اگر تعداد زیادی نمونه خون همزمان وارد آزمایشگاه شود و مقدار خون بیشتر از دو سی سی باشد پیشنهاد می شود ابتدا سلول های تک هسته ای خون فریز شود و در شرایط مناسب دفریز و با ویروس مورد نظر مواجه شود تا بتوان زمان و کیفیت انجام آزمایش را مدیریت کرد و چنانچه مقدار خون کمتر از یک سی سی و ارزشمند بود پیشنهاد می شود خون را به صورت کامل با ویروس مواجه کرد و از فریز کردن خون کامل خودداری شود.در مورد هزینه، با مقایسه مواد وزمان نامیراسازی، روشها تفاوت جندانی نداشتند.

کلید واژه ها: سلول لنفوبلاستوئیدی، میزان موفقیت، ویروس EBV

www.SID.ir