

فصل دوازدهم:

**کلیات ایمنی در کشت
سلول حیوانی و بافت گیاهی**

هدف کلی

آشنایی با اصول ایمنی در فعالیتهای تحقیقاتی مربوط به کشت سلول حیوانی و بافت گیاهی

اهداف اختصاصی

انتظار می‌رود پس از مطالعه این بخش، فراگیرنده بتواند:

- ۱- چگونگی ارزیابی خطر ناشی از کشت سلول حیوانی و نحوه مدیریت آن را بیان کند.
- ۲- اصول کشت بافت گیاهی و ایمنی مورد نیاز در کار را توضیح دهد.
- ۳- امکانات و تجهیزات لازم برای کشت بافت گیاهی را شرح دهد.

مقدمه

کاربرد کشت سلول انسانی و جانوری، در چند دهه اخیر، یکی از مهم‌ترین موتورهای محرکه صنایع دارویی، بخصوص ساخت فرآورده‌های دارویی زیستی^۱ و سامانه‌های آزمایشی مسیرهای زیست‌شیمیایی، مکانیسم‌های بیماری‌زایی و پاسخ‌های داخل و خارج سلولی بشمار می‌رود. با گسترش کاربرد این روش در علم داروسازی، نگرش ویژه‌ای به خطرات احتمالی ناشی از آن و نحوه پیشگیری و مقابله با این خطرات بوجود آمده است، طوری که انجمن‌های بین‌المللی ایمنی کار، استانداردهایی برای کار با بافت‌ها، خون، مایعات بدن و رده‌های سلولی^۲ اولیه ارائه کرده‌اند که امروزه رعایت آن‌ها از الزامات تمامی آزمایشگاه‌های آموزشی و تحقیقاتی معتبر سراسر دنیا است. همچنین امروزه کشت بافت گیاهی یکی از راه‌های افزایش محصولات گیاهی از راه تولید انبوه بخش تولیدکننده می‌باشد. با توجه به استفاده از این فن در تولید گیاهان تراریخته، لزوم تدوین آیین‌نامه ایمنی کشت بافت گیاهی در فعالیت‌های تحقیقاتی علوم دارویی ضروری بنظر می‌رسد. در این فصل ابتدا به بررسی ایمنی مورد نیاز در کشت سلولی و سپس به ایمنی و تجهیزات لازم در فرآیند کشت بافت گیاهی پرداخته خواهد شد.

۱-۱۲-۱- ایمنی در کشت سلولی

خطرات احتمالی کشت سلول انسانی بیشتر ناشی از استفاده از عوامل بیماری‌زای خونی مانند ویروس هپاتیت B، و یا میکروارگانیسم‌هایی مانند

۱. Biopharmaceuticals

۲. Cell lines

۲۵۴..... فصل دوازدهم: کلیات ایمنی در کشت سلول حیوانی و بافت گیاهی
مایکوباکتریوم توبرکلوزیس که در بافت ریه انسان لانه‌گزینی می‌کند و خطرات
احتمالی کشت سلول حیوانی، بیشتر در پی استفاده از سلول‌های
فناناپذیرشده^۱ توسط عوامل ویروسی مانند SV-۴۰ و آدنوویروس‌ها و یا
سلول‌های حامل ژنوم‌های ویروسی می‌باشد. تمام سلول‌های خونی، عصبی و
لنفی باید همیشه بعنوان عوامل مخاطره‌آمیز تلقی کرد.

۱-۱-۱۲- ارزیابی خطر

ارزیابی خطر کشت سلولی در آزمایشگاه‌های بیولوژیک مرتبط با علوم
دارویی، بیشتر معلول دو عامل ویژگی‌های ذاتی کشت سلول و ویژگی‌های
ناشی از آلودگی با عوامل بیماری‌زاست که در زیر به بیان آن‌ها پرداخته خواهد
شد.

۱-۱-۱-۱۲- ارزیابی خطر بر پایه ویژگی‌های ذاتی کشت سلول

با توجه به جدول ۱-۱۲، منبع، نوع سلول و نوع کشت، از عوامل اصلی مؤثر
بر روند ارزیابی خطر ناشی از کشت سلولی هستند. در این میان، نوع سلول و
نوع کشت در ارزیابی خطرات زیستی حاصله نقش تعیین‌کننده‌ای ایفا می-
کنند.

الف- نوع سلول: عامل مورد توجه در اینجا، قابلیت تومورزایی توسط سلول و
بافت مورد استفاده است. تجربه نشان داده‌است که سلول‌های انسانی بیشترین
قابلیت تومورزایی را در بین انواع سلول‌ها و بافت‌ها دارند.

۱. Immortalized cells

ب- نوع کشت: کشت‌های اولیه، بیشتر از رده‌های سلولی توانایی آلوده‌شدن با عوامل بیماری‌زا و برعکس، رده‌های سلولی بیشتر از کشت‌های اولیه، قابلیت القای تومور را دارا می‌باشند.

۲-۱-۱-۱۲- ارزیابی خطر بر پایه ویژگی ناشی از آلودگی با عوامل

بیماری‌زا

این آلودگی ممکن است عمدی یا سهوی باشد. یعنی ممکن است برای انجام پژوهش، بطور عمدی سلول‌ها با عوامل بیماری‌زا آلوده شوند. در این بحث، ارزیابی خطر بر اساس ویژگی‌های ذاتی عامل بیماری‌زا و وجود یا فقدان درمان مؤثر یا روش پیشگیری از عفونت در انسان سنجیده می‌شود. در بحث آلودگی سهوی، آلودگی‌ها ممکن است از منابع مختلفی مانند منبع سلول، در روند انجام آزمایش و یا از راه عوامل زیستی آلوده‌کننده مانند قارچ‌ها، ویروس‌ها، میکوپلازما و انگل‌ها بوجود آیند.

جدول ۱-۱۲- خصوصیات ذاتی کشت‌های سلولی که در ارزیابی مخاطرات زیستی آن‌ها باید در نظر گرفته شوند.

منبع (گونه‌های اولیه)	نوع سلول یا بافت‌ها	نوع کشت
سلول‌های پرندگان بی‌مهرگان	سلول‌های اپی‌تلیال و فیبروبلاست	رده سلولی ^۱ کاملاً شناخته‌شده
سلول‌های پستانداران (بجز انسان و پریمات)	مخاط گوارشی	رده سلولی
سلول‌های پریمات غیر انسانی	اندوتلیوم	کشت اولیه
سلول‌های انسانی	بافت‌های عصبی	
	سلول‌های خون‌ساز	

فلش‌ها، جهت افزایش خطر را نشان می‌دهند

(منبع / <http://www.biosecurite.be>).

برای کاهش این خطرات، بهتر است بدون توجه به رده‌های سلولی مورد استفاده، سطح ۲ ایمنی زیستی، همان سطح ایمنی زیستی مورد استفاده برای ویروس‌های ایدز و هپاتیت رعایت شود. منظور از رعایت سطح ۲ ایمنی زیستی، رعایت تمامی استانداردهای این سطح اعم از استفاده از وسایل محافظت شخصی مناسب، استفاده از کابینت‌های ایمنی زیستی و رعایت چگونگی حذف و آلودگی‌زدایی از ظروف و مواد آلوده می‌باشد که قبلاً در فصل هفتم بحث شده‌است.

۱. Cell line

۱۲-۲- اصول ایمینی در کشت بافت گیاهی

۱۲-۲-۱- تعریف

کشت بافت گیاهی، فرآیندی است که طی آن از یک بافت جداگشت، توده سلولی بدست می‌آید که از آن برای تولید متابولیت‌های ثانویه و یا تثبیت گیاهان استفاده کرد.

۱۲-۲-۲- تجهیزات و امکانات

برای انجام این فرآیند، به محیطی سترون نیاز است تا در محیط کشتی حاوی مواد غذایی مورد نیاز بافت، کالوس یا توده سلولی تمایز نیافته ایجاد شود. به این دلیل، آزمایشگاه کاملاً مجهزی مورد نیاز است که دارای امکانات زیر می‌باشد:

- الف- مکان‌های جداگانه برای تهیه و سترون محیط کشت، ذخیره‌سازی مواد تهیه شده و ترکیبات شیمیایی
 - ب- مکانی جداگانه برای تلقیح
 - ج- مکانی جداگانه برای کنترل شرایط رشد و نمو کشت‌ها
 - د- امکاناتی برای بررسی و ارزیابی کشت‌ها
 - ه- مکانی جداگانه برای نگهداری زباله‌های ناشی از کار
- در اتاق مخصوص تهیه محیط کشت، باید فضای کافی برای توزین مواد شیمیایی و حفظ لوازم شیشه‌ای مورد استفاده، موجود باشد. تمامی ظروف شیشه‌ای، میز کار، محیط کشت اولیه، مواد و بافت‌های گیاهی باید کاملاً سترون باشند.

۲۵۸..... فصل دوازدهم: کلیات ایمنی در کشت سلول حیوانی و بافت گیاهی
تلقیح قطعه جداکشت در محیط حاوی مواد غذایی موردنیاز، باید در اتاقک
سترون دارای جریان هوای سترون انجام شود. پس از آن، ظروف حاوی محیط
کشت، در اتاقک‌های مخصوص رشد و نمو که معمولاً گرمخانه یا اتاقی با درجه
حرارت ثابت است، قرار داده می‌شوند.
در تمام این اتاق‌ها، قوانین و مقررات کلی ایمنی و زیست ایمنی در
آزمایشگاه، که در بخش‌های گذشته به تفصیل آمده‌است، باید رعایت شود.

منابع فصل دوازدهم

- American Type Culture Collection (ATCC)
(<http://www.atcc.org/>, accessed June ۱, ۲۰۱۱.).
 - Pauwels K. *Animal Cell Culture: Risk Assessment and Biosafety Recommendations*; ۲۰۰۶.
(<http://www.biosacureite.be/cu/animalcellcultures/mainpage.html>, accessed June ۱, ۲۰۱۱.).
 - Custers R. *Biosafety in the Laboratory*. ۳rd edn.,
Belgium: VIP Publication; ۲۰۰۴.
- فرامرزی محمدعلی، نفیسی ورچه نسترن، مرادپور زهرا، شریف زاده محمد.
ایمنی زیستی در آزمایشگاه. تهران: انتشارات نویسه؛ ۱۳۸۶.