

کاربرد کشت سلول گیاهی در داروسازی

مقطع دکترای حرفه ای داروسازی

دانشکده داروسازی

دانشگاه علوم پزشکی شیراز

تهیه و تنظیم: دکتر شیوا همتی-استادیار گروه بیوتکنولوژی دارویی

## دانشکده داروسازی

تعداد واحد: 2 واحد	نام درس: کاربرد کشت سلول گیاهی در داروسازی
مدت زمان ارائه درس: 17 جلسه دو ساعته (34 ساعت)	مقطع: دکترای حرفه ای داروسازی
پیش نیاز: ندارد	
مسئول برنامه: دکتر شیوا همتی	

### اهداف کلی

هدف کلی این درس آشنا نمودن و گسترش آگاهی دانشجو نسبت به مفاهیم ذیل است:

- تاریخچه کشت سلول و کشت بافت گیاهی
- طراحی آزمایشگاه کشت بافت و تکنیک های استریل کردن
- ترکیبات غذایی مورد نیاز در محیط کشت سلولهای گیاهی
- کشت کالوس، کشت سوسپانسیون سلولی، کشت جنین، کشت پروتوپلاست، کشت بساک
- اندام زایی
- بیوترانسفورماسیون و بی تحرک سازی
- روشهای ذخیره کردن منابع ژنتیکی
- مهندسی ژنتیک و تومورهای گیاهی
- تولید افزودنیهای غذایی و دارویی توسط کشت سلولهای گیاهی
- کرایوپریزرواسیون

## اهداف اختصاصی:

در پایان هر کدام از مباحث زیر دانشجو باید بتواند دانش کافی و قابل ارزیابی در خصوص هر یک از مفاهیم ذیل هر مبحث را فرا گرفته باشد:

### 1- مقدمه ای بر کشت سلول و کشت بافت گیاهی

- 1-1- کشت سلول و کشت بافت گیاهی را تعریف کرده انواع آن را تقسیم بندی کند.
- 2-1- کشت کالوس، کشت اندام، کشت مریستم و کشت پروتوپلاست را تعریف کند.
- 3-1- تاریخچه کشت سلول و کشت بافت گیاهی را توضیح دهد.
- 4-1- کاربرد های کشت سلول و کشت بافت گیاهی را بیان کند.

### 2- طراحی آزمایشگاه کشت بافت و تکنیک های استریل کردن

- 1-2- لوازم مورد نیاز، چگونگی شستشوی ظروف و کار در اتاق تمیز را توضیح دهد.
- 2-2- شرایط استریل کردن با حرارت خشک و حرارت مرطوب را تشریح کند.
- 3-2- تکنیک های استریل کردن با اولترافیلتراسیون، مواد شیمیایی و آنتی بیوتیکها را تشریح کند.
- 4-2- نقش روباتها را در آزمایشگاههای کشت بافت گیاهی بیان کند.

### 3- ترکیبات غذایی مورد نیاز در محیط کشت بافتهای گیاهی

- 1-3- هورمونهای مورد نیاز کشت بافت های گیاهی را نام برده و نقش هر کدام را توضیح دهد.
- 2-3- نقش املاح معدنی، ویتامینها، اسیدهای آمینه، منابع کربنی، ترکیبات اسموتیک و مواد قوام دهنده مورد نیاز در کشت بافت گیاهی را توضیح دهد.
- 3-3- محیطهای کشت آماده تجاری را نام برده چگونگی انتخاب يك محیط کشت مناسب را تشریح کند.
- 4-3- چگونگی تهیه محلولهای استوک و شرایط نگهداری محیط کشت را توضیح دهد.

### 4- کشت کالوس

- 1-4- کالوس را تعریف کرده، چگونگی تولید آن را تشریح کند.
- 2-4- آناتومی کالوس، تمایز سلولهای آن و ویژگیهای فعالیت کالوس را بیان کند.
- 3-4- متابولیتهای و فعالیت فتوسنتتیک کالوس را تشریح کند.
- 4-4- تنظیم کننده های رشد لازم برای کالوس را نام ببرد.
- 5-4- تغییرات ژنتیکی در سلولهای کالوس را توضیح دهد.
- 6-4- جداسازی و ساب کالچر کردن کالوس را توضیح دهد.

## 5- کشت سوسپانسیون سلولی

- 1-5- کشت سوسپانسیون را تعریف کرده، چگونگی تولید آن را تشریح کند.
- 2-5- مراحل رشد و واکنش کردن سلولها را توضیح دهد.
- 3-5- سیستم های کشت بسته، نیمه پیوسته و پیوسته را توضیح دهد.
- 4-5- روشهای تعیین زیستایی را در کشتهای سوسپانسیونی توضیح دهد.

## 6- بیوترانسفورماسیون و بی تحرک سازی

- 1-6- بیوترانسفورماسیون را تعریف کرده، اهمیت آن را توضیح دهد.
- 2-6- تبدیلات بیوشیمیایی توسط کشتهای سوسپانسیون سلولی را با ذکر مثال تشریح کند.
- 3-6- سلولهای بی تحرک شده را تعریف کرده، اهمیت آن را توضیح دهد.
- 4-6- تبدیلات بیوشیمیایی توسط سلولهای ثابت نگهداشته شده را توضیح دهد.

## 7- کشت جنین

- 1-7- روشهای مختلف نوزایش را توسط کشت بافت گیاهی نام ببرد.
- 2-7- خواب رفتگی دانه و راههای غلبه بر آن را تشریح کند.
- 3-7- موارد کاربرد کشت جنین زیگوتیک را توضیح دهد.
- 4-7- روشهای تولید جنین از راه غیرجنسی را توضیح دهد.
- 5-7- منابع سلولی و خواص سلولهای تولید کننده جنین را توضیح دهد.
- 6-7- فاکتورهای مورد نیاز و مراحل تولید جنین را توضیح دهد.

## 8- اندام زایی

- 1-8- فاکتورهای کنترل کننده اندام زایی را نام ببرد.
- 2-8- کشت ریشه، تکنیک تهیه قطعات جداکشت و تغذیه کشت ریشه را تشریح کند.
- 3-8- کشت ریشه موبین را تعریف کرده چگونگی تولید آن را تشریح کند.
- 4-8- کشت نوساقه، تکنیک تهیه قطعات جداکشت و تغذیه کشت نوساقه را تشریح کند.
- 5-8- کاربرد کشت ریشه، ریشه موبین و نوساقه را در داروسازی توضیح دهد.

## 9- کشت پروتوپلاست

- 1-9- کشت پروتوپلاست را تعریف کرده موارد کاربرد آن را توضیح دهد.

- 9-2- منابع سلولی مورد استفاده در کشت پروتوپلاست را نام ببرد.
- 9-3- چگونگی استفاده از آنزیمها در فرایند جدا کردن دیواره سلولی را توضیح دهد.
- 9-4- تعیین دانسیته و زیستایی پروتوپلاستها را تشریح کند.
- 9-5- تولید و نوزایش از پروتوپلاست را تشریح کند.
- 9-6- ترکیبات الحاق کننده، فرایند الحاق و روشهای تشخیص دورگه ها را توضیح دهد.

#### 10- کشت بساک

- 10-1- کشت بساک را تعریف کند.
- 10-2- فاکتورهای موثر بر کشت بساک را توضیح دهد.
- 10-3- تکنیکهای دوبله کردن عدد کروموزومی را توضیح دهد.
- 10-4- چگونگی تهیه محیط کشت بساک را توضیح دهد.
- 10-5- چگونگی سابکالچر کردن کشت بساک را تشریح کند.

#### 11- مهندسی ژنتیک و تومورهای گیاهی

- 11-1- کاربردهای کشت بافت گیاهی را در مهندسی ژنتیک توضیح دهد.
- 11-2- نقش پلاسمیدها را در انتقال ژنتیکی و تکثیر غیرجنسی در کشت بافت گیاهی توضیح دهد.
- 11-3- ژنهای موجود بر روی T-DNA را تفسیر کند.
- 11-4- وارد کردن ژنهای جدید توسط Ti-Plasmid ها را توضیح دهد.
- 11-5- مسیرهای متابولیکی مهندسی شده توسط کشت بافت گیاهی را تشریح کند.

#### 12- تولید افزودنیهای غذایی و دارویی توسط کشت سلول گیاهی

- 12-1- چگونگی تولید کاپسایسین را در کشت سلول گیاهی توضیح دهد.
- 12-2- چگونگی تولید آنتوسیانین ها را توسط کشت سلول گیاهی بیان کند.
- 12-3- چگونگی تولید وانیلین را در کشت سلول گیاهی شرح دهد.
- 12-4- چگونگی تولید وین کریستین را در کشت سلول گیاهی توضیح دهد.
- 12-5- بازده تولید در محیط کشت استاندارد، در حضور القاگر و در حضور پیشتانز را توضیح دهد.

#### 13- روشهای ذخیره کردن منابع ژنتیکی

- 13-1- کرایوپریزرواسیون را تعرف کند.
- 13-2- دلایل فریز کردن ذخائر ژنتیکی گیاهی را توضیح دهد.
- 13-3- کرایوپروتکتانت های مناسب ذخیره کردن سلولهای گیاهی را معرفی کند.

- 4-13- سرعت بهینه سرد کردن سلولها را تشریح کند.
- 5-13- نکات ایمنی مرتبط با فریز کردن سلولها را بیان کند.
- 6-13- ویژگی فریزرهای کرایو مناسب ذخیره کردن منابع ژنتیکی گیاهی را توضیح دهد.
- 7-13- ذوب کردن صحیح سلولهای فریز شده را بیان کند.

#### روش آموزش:

بصورت سخنرانی کلاسیک توسط استاد و سخنرانی تعاملی شامل پرسش و پاسخ می باشد.

#### شرایط اجرا

#### امکانات آموزشی:

کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت بورد، مازیک

#### آموزش دهنده:

دکتر شیوا همتی

#### منابع اصلی درسی:

- **Plant Tissue Culture: Development and Biotechnology.** Trigiano RN & Gray DG. CRC Press. 2011.
- **In vitro Culture of Higher Plants.** Pierik RLM. Springer. 1997.
- **Plant Tissue Culture.** Laimer M & Ruker W. Springer. 2003.
- **مبانی کشت بافت گیاهی: تئوری و عملی.** افشاریپور سلیمان. معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، 1372

ارزشیابی

نحوه ارزشیابی:

ارزشیابی مستمر و فعال دانشجو در پرسش و پاسخ های کلاسی

سمینار کلاسی

امتحان کتبی میان ترم و پایان ترم

نحوه محاسبه نمره کل:

امتحان میان ترم (45 درصد کل نمره)

امتحان پایان ترم (45 درصد کل نمره)

فعالیت دانشجو در پرسش و پاسخ کلاسی و ارائه سمینار ( 10 درصد کل نمره)

مقررات:

حداقل نمره قبولی: 10

تعداد دفعات مجاز غیبت در کلاس: حداکثر 4 جلسه موجه

جدول زمان بندی درس: کاربرد کشت سلولی گیاهی در داروسازی

سر فصل مطالب	ساعت تدریس	نحوه ارائه	منابع درسی	امکانات مورد نیاز	روش ارزشیابی
<p><b>مقدمه ای بر کشت سلول و کشت بافت گیاهی</b></p> <p>- تعریف کشت سلول و کشت بافت گیاهی و آشنایی با انواع آن</p> <p>- آشنایی با کشت کالوس، کشت اندام، کشت مریستم و کشت پروتوپلاست</p> <p>- آشنایی با تاریخچه کشت بافت گیاهی</p> <p>- آشنایی با کاربرد های کشت بافت گیاهی</p>	2 ساعت	سخنرانی	Trigiano, Pierik, Laimer & افشار پیور	کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت برد، ماژیک	آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار
<p><b>طراحی آزمایشگاه کشت بافت و تکنیک های استریل کردن</b></p> <p>- آشنایی با لوازم مورد نیاز، چگونگی شستشوی ظروف و کار در اتاق تمیز</p> <p>- آشنایی با شرایط استریل کردن با حرارت خشک و حرارت مرطوب</p> <p>- آشنایی با تکنیک های استریل کردن بوسیله اولترافیلتراسیون، مواد شیمیایی و آنتی بیوتیکها</p> <p>- نقش روباتها در آزمایشگاههای کشت بافت گیاهی</p>	2 ساعت	سخنرانی	Trigiano, Pierik, Laimer & افشار پیور	کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت برد، ماژیک	آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار
<p><b>ترکیبات غذایی مورد نیاز در محیط کشت بافتهای گیاهی</b></p> <p>- آشنایی با هورمونهای مورد نیاز کشت بافت های گیاهی</p> <p>- نقش املاح معدنی، ویتامینها، اسیدهای آمینه، منابع کربنی، ترکیبات اسموتیک و مواد قوام دهنده</p> <p>- آشنایی با محیطهای کشت آماده تجاری</p> <p>- چگونگی تهیه محلولهای استوک و شرایط نگهداری</p>	2 ساعت	سخنرانی	Trigiano, Pierik, Laimer & افشار پیور	کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت برد، ماژیک	آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار
<p><b>کشت کالوس</b></p> <p>- آشنایی با چگونگی تولید کالوس</p>	4 ساعت	سخنرانی	Trigiano, Pierik, Laimer	کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت برد، ماژیک	آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار



	ماژیک	افشاریپور &			<ul style="list-style-type: none"> <li>- آناتومی کالوس</li> <li>- تمایز سلولها و ویژگیهای</li> <li>فعالیت کالوس</li> <li>- تنظیم کننده های رشد لازم برای</li> <li>تولید کالوس</li> <li>- متابولیتها و فعالیت فتوسنتتیک</li> <li>کالوس</li> <li>- تغییرات ژنتیکی در سلولهای</li> <li>کالوس</li> <li>- جداسازی و ساب کالچر کردن</li> <li>کالوس</li> </ul>
آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار	کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت برد، ماژیک	Trigiano, Pierik, Laimer & افشاریپور	سخنرانی	2 ساعت	<p><b>کشت سوسپانسیون سلولی</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- آشنایی با چگونگی تولید کشت</li> <li>سوسپانسیون سلولی</li> <li>- آشنایی با مراحل رشد و اکشت</li> <li>کردن سلولها</li> <li>- آشنایی با سیستم های کشت بسته،</li> <li>نیمه پیوسته و پیوسته</li> <li>- تعیین زیستایی در کشتهای</li> <li>سوسپانسیونی</li> </ul>
آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار	کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت برد، ماژیک	Trigiano, Pierik, Laimer & افشاریپور	سخنرانی	2 ساعت	<p><b>بیوترانسفورماسیون و بی تحرك</b> <b>سازی</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- آشنایی با تعریف و اهمیت</li> <li>بیوترانسفورماسیون</li> <li>- تبدیلات بیوشیمیایی توسط</li> <li>کشتهای سوسپانسیون سلولی</li> <li>- کشت سلولهای بی تحرك شده</li> <li>- تبدیلات بیوشیمیایی توسط</li> <li>سلولهای بی تحرك</li> </ul>
آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار	کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت برد، ماژیک	Trigiano, Pierik, Laimer & افشاریپور	سخنرانی	4 ساعت	<p><b>کشت جنین</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- آشنایی با روشهای مختلف</li> <li>نوزایش</li> <li>- خواب رفتگی دانه و راههای</li> <li>غلبه بر آن</li> <li>- تولید جنین از راه غیرجنسی</li> <li>- کاربرد کشت جنین زیگوتیک</li> <li>- منابع سلولی و خواص سلولهای</li> <li>تولید کننده جنین</li> <li>- آشنایی با فاکتورهای مورد نیاز</li> <li>تولید جنین</li> <li>- آشنایی با مراحل تولید جنین</li> </ul>

<p>آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار</p>	<p>کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت بورد، ماژیک</p>	<p>Trigiano, Pierik, Laimer &amp; افشارپور</p>	<p>سخنرانی</p>	<p>4 ساعت</p>	<p><b>اندام زایی</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- فاکتورهای کنترل کننده اندام زایی</li> <li>- کشت ریشه، تکنیک تهیه قطعات جداکشت و تغذیه کشت ریشه</li> <li>- چگونگی تولید کشت ریشه موین</li> <li>- کشت نوساقه، تکنیک تهیه قطعات جداکشت و تغذیه کشت نوساقه</li> <li>- کاربرد کشت ریشه، ریشه موین و نوساقه در داروسازی</li> </ul>
<p>آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار</p>	<p>کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت بورد، ماژیک</p>	<p>Trigiano, Pierik, Laimer &amp; افشارپور</p>	<p>سخنرانی</p>	<p>2 ساعت</p>	<p><b>کشت پروتوپلاست</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- آشنایی با کشت پروتوپلاست و موارد کاربرد آن</li> <li>- منابع سلولی مورد استفاده در کشت پروتوپلاست</li> <li>- چگونگی استفاده از آنزیمها در فرایند جدا کردن دیواره سلولی</li> <li>- تعیین دانسیته و زیستایی پروتوپلاستها</li> <li>- تولید و نوزایش از پروتوپلاست</li> <li>- ترکیبات الحاق کننده، فرایند الحاق و روشهای تشخیص دورگه ها</li> </ul>
<p>آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار</p>	<p>کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت بورد، ماژیک</p>	<p>Trigiano, Pierik, Laimer &amp; افشارپور</p>	<p>سخنرانی</p>	<p>2 ساعت</p>	<p><b>کشت بساک</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- آشنایی با کشت بساک</li> <li>- آشنایی با فاکتورهای موثر بر کشت بساک</li> <li>- آشنایی با تکنیکهای دوبله کردن عدد کروموزومی</li> <li>- آشنایی با چگونگی تهیه محیط کشت و ساب کالچر کشت بساک</li> </ul>
<p>آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار</p>	<p>کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت بورد، ماژیک</p>	<p>Trigiano, Pierik, Laimer &amp; افشارپور</p>	<p>سخنرانی</p>	<p>4 ساعت</p>	<p><b>مهندسی ژنتیک و تومورهای گیاهی</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- کاربردهای کشت بافت گیاهی در مهندسی ژنتیک</li> <li>- نقش پلاسمیدها در انتقال ژنتیکی و تکثیر غیرجنسی</li> <li>- آشنایی با ژنهای موجود بر روی T-DNA</li> <li>- وارد کردن ژنهای جدید توسط Ti-Plasmid ها</li> <li>- آشنایی با مسیرهای متابولیکی مهندسی شده توسط کشت بافت</li> </ul>

گیاهی					
<p><b>تولید افزودنیهای غذایی و دارویی</b> <b>توسط کشت بافت گیاهی</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- آشنایی با تولید کاپسایسین توسط کشت بافت</li> <li>- آشنایی با تولید آنتوسیانین ها توسط کشت بافت</li> <li>- آشنایی با تولید وانیلین توسط کشت بافت</li> <li>- آشنایی با تولید وین کریستین در کشت بافت</li> <li>- بازده تولید در محیط کشت استاندارد، در حضور الفاکر و در حضور پیشتاز</li> </ul>	2 ساعت	سخنرانی	Trigiano, Pierik, Laimer & افشارپور	کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت برد، ماژیک	آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار
<p><b>روشهای ذخیره کردن منابع ژنتیکی</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- آشنایی با مفهوم کرایوپریزرواسیون</li> <li>- دلایل فریز کردن ذخائر ژنتیکی گیاهی</li> <li>- کرایوپروتکتانت های مناسب</li> <li>- ذخیره کردن سلولهای گیاهی</li> <li>- سرعت بهینه سرد کردن سلولها</li> <li>- نکات ایمنی مرتبط با فریز کردن سلولها</li> <li>- ویژگی فریزرهای کرایو مناسب</li> <li>- ذخیره کردن منابع ژنتیکی گیاهی</li> <li>- ذوب کردن صحیح سلولهای فریز شده</li> </ul>	2 ساعت	سخنرانی	Trigiano, Pierik, Laimer & افشارپور	کلاس، کامپیوتر، ویدئو پروژکتور، وایت برد، ماژیک	آزمون کتبی، پرسش و پاسخ، سمینار