آزمایشگاه جامع تحقیقات
دانشگاه علوم پزشکی وخدمات
بهداشتی درمانی کاشان

آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه

(Core Research Laboratory)

با نگاهی بر امکانات، خدمات، اهداف و وظایف

تهیه کنندگان:

دکتر محسن اربابی

دکتر امین مرادی حسن آباد

آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه

با نگاهی بر امکانات، خدمات، اهداف و وظایف

آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه

با نگاهی بر امکانات، خدمات، اهداف و وظایف

تهیه کنندگان:

دکتر محسن اربابی

استاد انگل‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان

مدیر گروه انگل، قارچ شناسی و حشره شناسی، دانشکده پزشکی

مدیر آزمایشگاه جامع تحقیقات

دکتر امین مرادی حسن آباد

استادیار بیوتکنولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان

۱۴۰۰ خورشیدی

بسمه تعالی

توانا بود هرکه دانا بود　　زدانش دل پیر برنا بود

سپاس خداوندی که انسان را از خاک به اشرف مخلوقات رفعت بخشید و وی را دانش و فرهیختگی عطا کرد تا گنجینه‌های علم را از دل کویر جهالت خارج نماید. امروز در عصر اطلاعات و ارتباطات و وضعیت پیچیده ارائه خدمات و همچنین رقابت تنگاتنگ برای کسب بخش بیشتری از بازار، یکی از مهمترین عناصر داشتن برنامه مدون و جامع و پایبند بودن به آن از تمام جهات است تا بتوان بر اساس آن نه تنها به حیات سازمان ادامه داد بلکه بتوان سرآمد بود. مجموعه حاضر مقدمه‌ایی است بر تلاش اعضای هیات علمی خدوم و زحمت کش آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کاشان از جمله موسسان، سیاست گذاران و مدیر آزمایشگاه از سال ۱۳۹۷ تاکنون که سعی بر توسعه و پیشرفت این مرکز و ارائه خدمات علمی و پژوهشی با بهترین کیفیت به دانشجویان، محققان و اعضای هیات علمی دانشگاه داشته اند. بطوری که سرلوحه کار آنان نیل به اهداف عالیه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان بوده است. همچنین این مجموعه درراستای برنامه استراتژیک دانشگاه، معاونت تحقیقات و فناوری و اهداف آزمایشگاه جامع تحقیقات به منظور مشخص کردن مقصد است. بدیهی است که موفقیت هر نهاد علمی چه در سطح ملی و چه در سطح بین المللی به ویژه امروز که فعالیت موسسات علمی به شکل روزمره زیر چتر تاثیر رویدادهای شتابنده و متحول جهانی قرار گرفته، در گروه فعالیت کارا و اثر بخش تصمیم سازان و مدیران در تمامی عرصه‌هاست.

حسن التدبیر ینمی قلیل المال و سوء التدبیر نفنی کثیره

برنامه‌ریزی درست مال اندک را افزایش می‌دهد و برنامه‌ریزی نادرست مال فراوان را نابود می‌کند. (غررالحکم-ج ۱- ص ۱۶۷)

التلطف فی الحیله اجدی من الوسیله

ظرافت و دقت در برنامه ریزی بهتر از امکانات است. (غررالحکم-ج ۱- ص ۱۶۷)

التدبیر قبل العمل یومنک من الندم

آینده نگری قبل از شروع کار، تو را از پشیمانی ایمن می‌سازد. (غررالحکم-ج ۶۸- ص ۳۳۸)

در پایان از کلیه عزیزانی که ما را در در تهیه کتاب حاضر یاری کردند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنیم.

با احترام مولفین مهر ۱۴۰۰

نگاهی کلی به سیر تاسیس و تحول آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه ۹
اهداف آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه ۹
رسالت آزمایشگاه جامع تحقیقات ۱۰
ماموریت‌های آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه ۱۰
چشم انداز آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه ۱۰
ارزشهای حاکم بر رسالت آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه ۱۱
نقاط قوت رسالت آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه ۱۱
چارت سازمانی آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه ۱۲
وضع موجود نیروی انسانی ۱۲
آزمایشگاه‌های زیر مجموعه آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه ۱۲
آزمایشگاه مهندسی ژنتیک و آنالیز پروتئین (Laboratory of Genetic Engineering and Protein) ۱۳
کلونینگ ژن (Gene cloning) ۱۳
هضم آنزیمی (Enzymatic Digestion) ۱۳
خالص سازی از روی ژل (Gel Extraction Or Gel Purification) ۱۴
واکنش اتصال (Ligation) ۱۴
ساختن سلول مستعد(Competent Cell) ۱۴
ترانسفورماسیون (Transformation) ۱۵
تستBCA ۱۵
سنجش پروتئین به روش برادفورد (Bradford protein assay) ۱۵
SDS-PAGE ۱۶
Western Blot ۱۷
استخراج پلاسمید (plasmid) ۱۷
کشت باکتری (Bacteria Culture) ۱۸
آزمایشگاه بیومارکرهای مولکولی (Molecular biomarkers Laboratory) ۱۸
استخراج DNA از میکروارگانیسم ها، خون، رده های سلولی، بافت تازه، بافت پارافینه ۱۸
در استخراج DNA از خون به روشSalting-Out ۱۸
در استخراج DNA به روش فنول کلروفرم ۱۸
در روش های استخراج DNA به وسیله کیت ۱۸
استخراج RNA از میکروارگانیسم ها، خون، رده های سلولی، بافت تازه ۱۹
تعیین غلظت و خلوص اسیدهای نوکلئیک با دستگاه خوانش OD یا Nano Drop ۱۹
سنتز cDNA ۲۰
انواع PCR از قبیل ARMS-PCR, PCR-RFLP, RT-PCR ۲۰

بررسی کمی ژن ها با Real-Time PCR و انالیز داده ها Real-Time PCR ۲۱
خدمات ژنوتایپینگ با روش High Resolution Melting ۲۴
الکتروفورز افقی و عمودی و رنگ امیزی نیترات نقره ۲۴
بیسولفیت کردن DNA ۲۵
بررسی متیلاسیون ژنها با روش های MSP و HRM ۲۵
اندازه گیری کانت میتوکندری ۲۵
اندازه گیری طول تلومر ۲۶
آزمایشگاه آنالیز دستگاهی (Analytical Laboratory Equipment) ۲۶
آنالیز HPLC ۲۶
سنتز نانوکامپوزیت های هیدروکسی آپاتیت ۲۷
طراحی نانو حامل های پلیمری ۲۸
کروماتوگرافی لایه نازک (Thin Layer Chromatography) ۲۸
آزمایشگاه کشت سلول (Cell Culture Laboratory) ۳۱
کشت رده سلول ۳۱
تکثیر و نگهداری طولانی مدت رده های سلول حیوانی ۳۱
بررسی زنده مانی (Viability) و شمارش سلولی ۳۱
تکنیک الایزا (ELISA) ۳۲
تیمار سلول ها با انواع داروها و بررسی سمیت مواد (MTT,XTT,LDH Assays) ۳۲
ترنسفکشن سلولها با DNA و انواع RNA ۳۳
انجام تست لوسیفراز (Luciferase assay) ۳۳
بررسی میزان آپوپتوز و نکروز به روش رنگ آمیزی AO/PI ۳۳
تست های تهاجم و مهاجرت سلولی ۳۴
کشت سلول اولیه (Primary Cell Culture) ۳۵
نامیرا کردن سلولها ۳۵
امکانات و تجهیزات آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه ۳۶
تجهیزات کشت میکروبی ۳۶
لوپ یا فیلدوپلاتین، آنس و سواب ۳۶
چراغ های الکلی و گازی ۳۶
هودشیمیایی (Fume Hood) ۳۶
هود لامینار یا بیولوژیک کلاس یک (کابین تمیز) ۳۷
هود بیولوژیک کلاس دو ۳۷
هود بیولوژیک کلاس سه ۳۸

PCR Work Station ۳۸
دستگاه ترمال سایکلر ۳۹
سیستم های الکتروفورز افقی و عمودی ۳۹
سیستم ژل داک (Gel Documentation System) ۴۰
Real-Time PCR ۴۱
سیستم کامل SDS-PAGE و Western Blot ۴۲
SDS-PAGE ۴۲
Western Blot ۴۲
انکوباتور(Incubator) ۴۲
انکوباتور معمولی ۴۲
انکوباتور یخچال دار (خنک کننده) ۴۳
انکوباتور آزمایشگاهیCO2 ..... ۴۳
انکوباتور شیکر دار آزمایشگاهی ۴۳
دستگاه سانتریفیوژ (سانتریفیوژهای معمولی، اولترا و یخچال دار) ۴۴
دستگاهHPLC ۴۵
دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ (Spectrophotometer Nanodrop) ۴۵
یخچال معمولی ۴۶
یخچال فریزر منفی ۲۰ درجه ۴۶
یخچال فریزر منفی ۸۶ درجه ۴۶
تانک ازت ۴۶
ترازوی حساس آزمایشگاهی ۴۷
دستگاه خوانشگر میکروپلیت (Microplate – Reader) ۴۷
حمام آب (Water Bath)یا (به فرانسویBain Marie) ۴۸
هات بلاک (Hot Block) ۴۸
سمپلر های معمولی و کریستالی ۴۹
مینی فیوژ (ورتکس و اسپین) ۵۰
pHمتر ۵۰
میکروسکوپ نوری مرکب ۵۱
میکروسکوپ معکوس (Inverted Microscopy) ۵۱
لام هموسیتومتر ۵۲
هات پلیت مگنت دار(Magnetic Hot Plate) ۵۳
شیکر معمولی و شیکر الاکلنگی ۵۳

اتوکلاو (Autoclave) ۵۳
دستگاه آب مقطر گیری دو بار تقطیر ۵۴
ست سوکسله (Soxhlet Extractor) ۵۵
سونیکاتور (Sonicator) یا هموژنایزر التراسونیک (Ultrasonic Homogenizer) ۵۶
دستگاه تقطیر آزمایشگاهی ۵۶
لوازم آزمایشگاه و تجهیزات ایمنی ۵۷
بِشر(Beaker) ۵۸
ارلن (Erlenmeyer Flask) ۵۸
لوله آزمایش (Test Tube) ۵۸
شیشه ساعت(Watch Glasses) ۵۹
قیف (Funnel) ۵۹
استوانه مدرج (Graduated Cylinder) ۵۹
توصیه‌هایی برای سنجش حجمی با لوازم آزمایشگاه ۶۰
بالن حجمی (Volumetric Flask) ۶۰
بالن ته گرد (Round Bottom Flask) ۶۱
قطره چکان (Dropper) ۶۱
پیپت پاستور ۶۱
بورت ۶۲
پایه و گیره (Stand and Clamps) ۶۲
اسپاتول ۶۳
دماسنج (Laboratory Thermometer) ۶۳
چراغ بونزن (Bunsen Burner) ۶۳
پیست (Wash Bottle) ۶۴

نگاهی کلی به سیر تاسیس و تحول آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه:

در جهان امروز، علم و فناوری اساسی‌ترین عامل پیشرفت در همه‌ی عرصه‌های صنعتی و اقتصادی محسوب می‌گردد. حرکت به سوی نوآوری و تولید علم و دانش و تبدیل آن به فناوری و محصولات قابل رقابت در عرصه جهانی از مهمترین اهداف اقتصادی کشورها به شمار می‌رود. تحقیق و پژوهش لازمه تولید علم و توسعه دانش در هر جامعه‌ای است. اما امروزه حوزه پژوهش و مخصوصا پژوهش‌های آزمایشگاهی در دانشگاه‌ها به دلیل نیاز به تکنولوژی‌های پیشرفته و امکانات تخصصی با مشکلات زیادی روبه‌رو است. امکان فراهم سازی بسیاری از خدمات و تجهیزات آزمایشگاهی به دلیل قیمت و هزینه نگهداری بالای آنها و همچنین نیاز به حضور کارشناسان با تجربه، در همه مراکز تحقیقاتی و دانشگاهها وجود ندارد. از این رو با هدف رفع این معضل و بهینه سازی فرآیند تحقیق و توسعه در دانشگاه‌ها و در راستای تحقق حرکت رو به جلو در عرصه‌های نوین پژوهشی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، اقدام به راه اندازی آزمایشگاه جامع تحقیقات نموده است. ایده تاسیس آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کاشان بر اساس سیاست‌های کلان وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی در سال ۱۳۹۳ مطرح و در برنامه توسعه معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان قرار گرفت. این مرکز در ۲۰ دی ۱۳۹۷ با حضور معاونت محترم تحقیقات و فناوری وزارت بهداشت افتتاح و از همین زمان فعالیت‌های علمی خود را آغاز می‌کند. محل استقرار این مرکز در طبقه همکف مجتمع آموزشی و پژوهشی فرقانی واقع است. آزمایشگاه جامع تحقیقات به منظور ارائه خدمات تخصصی پژوهشی به اعضاء محترم هیات علمی، دانشجویان تحصیلات تکمیلی، شرکت‌های دانش بنیان و بخش صنعت برای انجام طرح‌های تحقیقاتی و ایجاد فضای مناسب برای اجرای کامل طرح های پژوهشی با مدرنترین تجهیزات آزمایشگاهی راه اندازی گردیده است. این مرکز همچنین در نظر دارد با فراهم نمودن دستگاه های با فن‌آوری پیشرفته، خدمات تخصصی بالینی برای سلول درمانی، ژن درمانی و سایر روش‌های درمانی پیشرفته به پزشکان محترم ارائه نماید.

اهداف آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه :

۱. ارائه خدمات پژوهشی مطابق با بالاترین استانداردهای بین المللی درراستای پاسخ گویی به نیازهای محققین و جامعه

۲. بهبود کیفیت پژوهش‌های دانشگاه

۳. تامین فضاهای تحقیقاتی با امکانات و تجهیزات بروز

۴. تامین عدالت در ارائه و توزیع خدمات پژوهشی

۵. دستیابی به بالاترین رضایتمندی پرسنل و پژوهشگران

۶. حرکت در جهت تبدیل شدن به یکی از بهترین آزمایشگاه‌های جامع تحقیقات در قطب‌های علمی حوزه سلامت

۷. افزایش سهم معاونت تحقیقات دانشگاه در تولید علم و تربیت پزشکان فناور و محقق در علوم پزشکی

۸. تاثیر گذاری بر مدیریت و سیاست گذاری‌های کلان نظام آزمایشگاهی کشور

۹. تامین و توسعه منابع جهت به کارگیری موثر در ارائه خدمات پژوهشی

۱۰. بهره‌گیری از دانشجویان تحصیلات تکمیلی پایه و بالینی در فرآیندهای پژوهشی

۱۱. ارتقاء رتبه و نقش آزمایشگاه در حیطه‌های کاربردی تحقیقات

۱۲. توسعه تعاملات ملی

۱۳. ارتقا سیستم مدیریتی آزمایشگاه جامع تحقیقات با توجه به اسناد بالا دستی و استانداردهای معتبر

رسالت آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه:

ما موظفیم با همکاری مدیران ارشد دانشگاه، معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه، محققین برجسته، باانگیزه و متعهد، دانشجویان تحصیلات تکمیلی، نهادهای ذیربط، مسئولان ذیربط درمعاونت تحقیقاتی وزارت متبوع، کلیه فعالیت‌های پژوهشی و خدماتی خود را برنامه محور نموده و با دادن بازخورد مناسب و اصلاح مداوم فرآیندها و فعالیت‌ها موقعیت مناسبی را برای دستیابی به وضعیت مطلوب طراحی و اجرا نمائیم. در راستای وظایف و تکالیف خود به مدیران ارشد دانشگاه و وزارت متبوع پاسخگو هستیم.

این آزمایشگاه ماموریت‌های زیر را در رابطه با تحقیقات در سطح دانشگاه به عهده دارد:

۱. ایجاد بستر مناسب پژوهشی و تامین فضای تحقیقاتی مناسب برای اساتید، محققین و دانشجویان تحصیلات تکمیلی

۲. ارائه خدمات تخصصی پژوهشی به پژوهشگران داخل و خارج دانشگاه

۳. راه اندازی روش‌ها و تکنیک‌های جدید در حوزه علوم پایه و بالینی در جهت کمک به انجام تحقیقات مطابق با علم جهانی

۴. تولید دانش روا و پایا، درحوزه‌های پایه و بالینی پزشکی

۵. آموزش نیروی انسانی متخصص در زمینه تکنیک‌های بروز از طریق برگزاری کارگاه و دوره‌های آموزشی

۶. ارتقاء دانش معتبر پزشکی متناسب با نیازهای واقعی و فرهنگ جامعه از طریق انتشار نتایج تحقیقات

۷. ارائه خدمات مشاوره‌ای و مشارکت در تهیه پروپوزال‌های پژوهشگران

۸. انجام تحقیقات مشترک با سایر مراکز علمی و اکادمی کشور

۹. پاسخگویی به نیازهای پژوهشی در حال تغییر دانشگاه

۱۰. حفظ روزآمدی دانش و ارتقاء سطح توانمندی‌ها و مهارت‌های حرفه‌ای دانشجویان تحصیلات تکمیلی و اعضای هیئت علمی متناسب با تغییرات علمی و فناوری

۱۱. توجه به سیاست‌های کلی پژوهشی در سطح ملی و منطقه‌ای، نقشه جامع علمی کشور، اولویت‌های منطقه و معضلات بهداشت

۱۲. ارتقاء جایگاه پژوهشی دانشگاه در رتبه بندی‌های معتبر ملی

چشم انداز آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه:

ما قصد داریم تا از طریق ارائه خدمات تخصصی پژوهشی مطلوب و با کیفیت مورد نیاز پژوهشگران مطابق با استانداردهای جهانی و بهره گیری از توانمندی‌های موجود و در راستای تحقق سیاست‌های کلان دانشگاه و کشور و بهره‌گیری از توانمندی‌های درون و برون سازمانی طی یک دهه آینده به جایگاه ممتاز در بین آزمایشگاه‌های جامع تحقیقات کشور دست یابیم و در فراهم نمودن محیط رشد و بالندگی و پرورش استعدادهای خلاق و همچنین شکوفایی چرخه علم، فناوری و خلق ثروت سهم قابل ملاحظه‌ای در جامعه داشته باشیم.

ارزش‌های حاکم بر رسالت آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه:

۱. حفظ ارزش‌های متعالی اسلامی- انسانی

۲. حفظ کرامت و التزام به رعایت حقوق انسان‌ها موکد در دین مبین اسلام

۳. اخلاق مداری درآموزش، پژوهش و ارائه خدمات پژوهشی

۴. رعایت اخلاق پزشکی و شئونات تحقیق

۵. رعایت عدالت در ارائه خدمات

۶. ارج نهادن به جایگاه والای محققیقین و مراجعین

۷. تحقیق و ارائه خدمت بر اساس نیازهای واقعی جامعه

۸. پاسخگوئی به مدیران ارشد دانشگاه

۹. پویائی و نوگرائی و طلب علم

۱۰. پایبندی به قوانین و مقررات و سیاست‌های دانشگاه و وزارت متبوع

۱۱. رعایت صرفه و صلاح دانشگاه در اولویت گذاری‌ها، درخواست ها و تخصیص منابع در ارائه خدمات

نقاط قوت رسالت آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه:

۱. در نظرگرفتن نیازهای اساسی سلامت جامعه و نظام ارائه خدمات سلامت

۲. متناسب بودن با اسناد بالا دستی، سیاست‌های کلی سلامت در سطح ملی و منطقه‌ای، اولویت‌ها و معضلات بهداشت جهانی

۳. در نظر داشتن ارزش‌های متعالی اسلامی- انسانی و التزام به رعایت حقوق انسان‌ها و پاسخگویی اجتماعی

۴. مشارکت ذی نفعان اصلی در تدوین آن

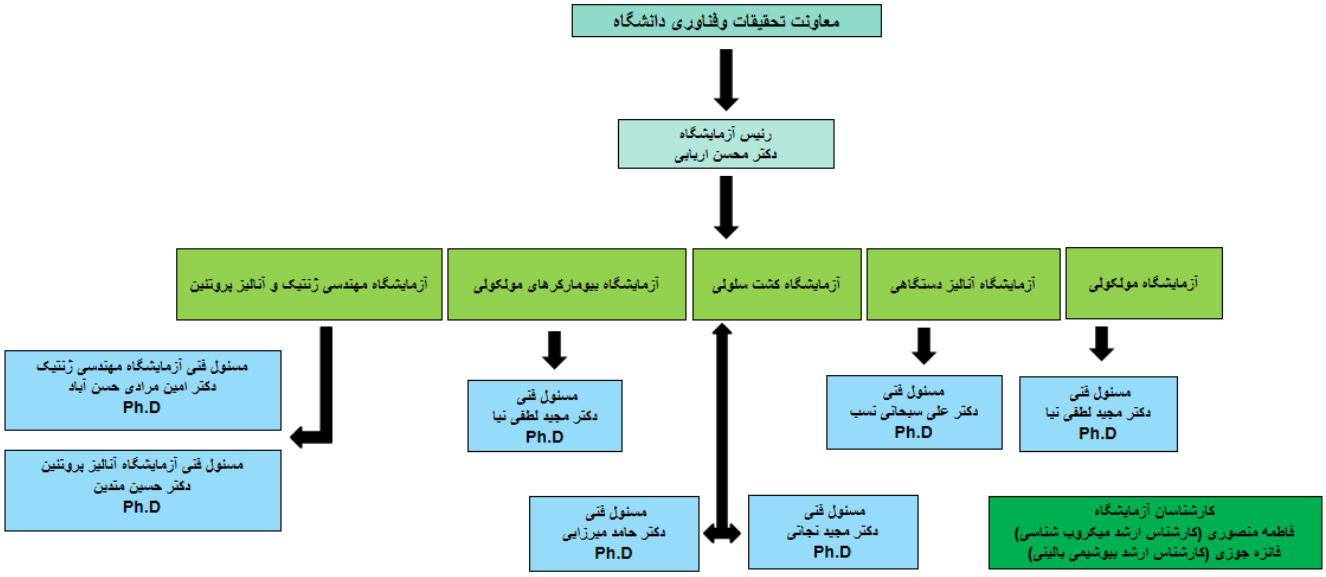
۵. قابل تحقق بودن اهداف و راهبردهای آزمایشگاه

۶. آگاهی ذینفعان از رسالت و ماموریت آزمایشگاه

۷. قدرت تغییر پذیری و اصلاح ماموریت آزمایشگاه متناسب با پیشرفت‌های علمی

۸. ارتباط علمی، تعامل اجتماعی قوی و موثر هیئت علمی آزمایشگاه جامع با سایر اساتید و بخش‌های دانشگاه

چارت سازمانی آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه:



وضع موجود نیروی انسانی:

درحال حاضر ۶ متخصص در رشته‌های بیوتکنولوژی داروئی، بیوتکنولوژی پزشکی، نانوفناوری پزشکی، سلولی مولکولی و ایمنولوژی با درجه دکتری تخصصی (PhD) بطور تمام وقت در آزمایشگاه‌های آزمایشگاه جامع به شرح زیر مشغول فعالیت و ارائه خدمات به پژوهشگران و محققین می‌باشند.

*مدیر آزمایشگاه : دکتر محسن اربابی Ph.D - استاد انگل شناسی پزشکی - سابقه تدریس ۳۰ سال

نام و نام خانوادگی	تخصص	سمت	ایمیل
دکتر حسین متدین	Ph.D ایمونولوژی پزشکی	هیات علمی	hmotedayyen@gmail.com
دکتر مجید لطفی نیا	Ph.D بیوتکنولوژی داروئی	هیات علمی	Majid.Lotfinia@gmail
دکتر مجید نجاتی	Ph.D علوم تشریحی	هیات علمی	mnejatimt@gmail.com
دکتر علی سبحانی	Ph.D نانوفناوری پزشکی	هیات علمی	ali.sobhaninasab@gmail.com
دکتر حامد میرزائی	Ph.D بیوتکنولوژی پزشکی	هیات علمی	h.mirzaei2002@gmail.com
دکتر امین مرادی حسن آباد	Ph.D بیوتکنولوژی پزشکی	هیات علمی	Amin.moradi63@yahoo.com

کارشناس آزمایشگاه جامع تحقیقات داانشگاه:

نام و نام خانوادگی	رشته تحصیلی	سمت	ایمیل
فائزه جوزی	کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی	کارشناس	jozifaezeh@gmail.com
فاطمه منصوری	کارشناسی ارشد میکروب شناسی	کارشناس	f.mansouri91@gmail.com

آزمایشگاه های زیر مجموعه ازمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه:

- آزمایشگاه مهندسی ژنتیک و آنالیز پروتئین (Laboratory of Genetic Engineering and Protein Analysis)

- آزمایشگاه بیومارکرهای مولکولی (Molecular biomarkers Laboratory)

- آزمایشگاه مولکولی (Molecular laboratory)

- آزمایشگاه آنالیز دستگاهی (Analytical Laboratory Equipment)

- آزمایشگاه کشت سلول (Cell Culture Laboratory)

آزمایشگاه جامع تحقیقات با بهره‌گیری از امکانات و تجهیزات مناسب آزمایشگاهی و نیز امکانات نرم افزاری و سخت افزاری، شرایط لازم برای انجام پروژه های مولکولی، سیتوژنتیک، کلونینگ، مطالعات بیان کمی و کیفی ژنها، اپی‌ژنتیک، فارماکوژنتیک، کشت سلولی، طراحی و تولید کیت‌های مولکولی آزمایشگاهی و نیز مطالعات بیوانفورماتیک پایه و بالینی را مهیا نموده است. با توجه به وجود فضای آزمایشگاهی مناسب این مرکز شرایط مناسبی برای برگزاری کارگاه‌های آموزشی در اختیار دارد. از جمله این کارگاهها می‌توان به کارگاه PCR، کارگاه RT-PCR، کارگاه Real-Time PCR، کارگاه کشت سلول، کارگاه بررسی متیلاسیون ژنها (اپی ژنتیک)، کارگاه بیوانفورماتیک مقدماتی و پیشرفته، کارگاه کلونینگ و بیان پروتئین‌های نوترکیب، کارگاه روش‌های تشخیص مولکولی بیماریهای ژنتیک و کارگاه روش‌های آنالیز دستگاهی اشاره کرد. در این آزمایشگاه تمامی سرفصل‌ها به شکل تئوری و عملی توسط اساتید آموزش داده شده و دانشجویان خود به شکل عملی، تکنیک‌ها را به خوبی می‌آموزند، در این دوره‌ها افراد با اصول اولیه روشهای آزمایشگاهی و همچنین ابزار و وسایل مربوطه آشنا می‌گردند. پس از گذراندن این دوره‌ها افراد می توانند پروژه‌های خود در زمینه علوم زیستی را بدون هیچ مشکلی به انجام برسانند. آزمایشگاه جامع تحقیقات به جهت تسریع امور پژوهشی دانشجویان و پژوهشگران، با بهره‌گیری از امکانات کافی خدمات زیر را ارائه می‌کند.

آزمایشگاه مهندسی ژنتیک و آنالیز پروتئین (Laboratory of Genetic Engineering and Protein):

کلونینگ ژن (***Gene cloning***): کلونینگ فرآیندی است که در آن قطعه خاصی از ژنوم یک موجود با انتقال به یک حامل یا وکتور مناسب، نسخه‌های یکسان و زیادی از آن را در محیط طبیعی (سلول یا بافت زنده) تکثیر می‌کند. هدف از کلونینگ ژن فراهم کردن نسخه‌های متعدد از یک ژن منفرد است که در حوزه‌های مختلف تحقیقاتی، پزشکی و صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در حوزه تحقیقات به مواردی مانند آنالیز قسمت‌های مختلف یک ژن مانند پروموتر و یا یک اگزون خاص میتوان اشاره کرد همچنین می‌توان بررسی کرد که تغییر و حذف نواحی مختلف از یک ژن چه تاثیری روی عملکرد سلول، بافت و یا اندام خاص دارد. از کاربردهای پزشکی این تکنیک می‌توان به مواردی از قبیل ژن درمانی و از کاربردهای صنعتی میتوان به تولید مقدار زیادی از یک پروتئین اشاره کرد.

کلونینگ یک ژن شامل مراحل زیر است:

- جدا کردن ژن مد نظر از بقیه ژن‌ها

- انتخاب وکتور مناسب

- وارد کردن ژن به وکتور و تشکیل پلاسمید نوترکیب

- انتقال پلاسمید به سلول میزبان مناسب (Transformation)

- غربالگری کلونی‌ها برای یافتن کلونی نوترکیب

هضم آنزیمی (***Enzymatic Digestion***): هضم آنزیمی با استفاده از آنزیم های مناسب انجام می‌گیرد که بعد از هضم و خالص‌سازی از ژل، OD محصول خوانده می‌شود و همچنین باندهای مربوط به قطعات مورد نظر بر روی ژل باید مشاهده شود و در صورت مناسب نبودن نتایج هضم آنزیمی، هضم آنزیمی دوباره تکرار می‌شود. بسیاری از ابزارهای تجزیه و تحلیل DNA، از جمله Nebcutter، به شما امکان می دهند مکانهای آنزیم محدود کننده را در یک توالی مشخص، مشاهده کنید. هنگام انتخاب آنزیم های محدودکننده برای وکتور و ژن مورد نظر خود، آنزیمی انتخاب می شود که:

- داخل توالی مورد نظر را برش نزند.

- در پلاسمید گیرنده خود در مکان مورد نظر معمولاً در سایت کلونینگ چندگانه (MCS) برش ایجاد کند، اما در جای دیگری روی پلاسمید برش رخ ندهد.

- باعث شود توالی مورد نظر در جهت صحیح در پلاسمید گیرنده وارد شود.

در حالت ایده آل، از دو آنزیم محدودکننده مختلف برای کلونینگ استفاده خواهد شد. همچنین استفاده از آنزیم منفرد نیز ممکن است، اما این کار به تیمار فسفاتاز پلاسمید و همچنین آزمایشی ویژه نیاز دارد تا تأیید شود که درج در جهت گیری صحیح کلون شده است. از آنجا که مقداری DNA در مرحله خالص‌سازی ژل از دست می رود، هضم مقدار زیادی از مواد اولیه مهم است. اگر فقط از یک آنزیم محدودکننده یا آنزیم هایی استفاده میشود که پس از هضم انتهاهای چسبنده سازگار یا انتهای صاف ایجاد می کنند، برای جلوگیری از گردش مجدد پلاسمید گیرنده، باید از فسفاتاز استفاده شود. باید بسته به فسفاتاز مورد نظر، پلاسمید هضم شده قبل از مرحله پاکسازی ژل تیمار شود. معمولاً از CIP (فسفاتاز قلیایی روده ای گوساله) یا SAP (فسفاتاز قلیایی میگو) استفاده می شود.

کاربردهای هضم آنزیمی در تحقیقات: هضم آنزیمی یکی از مراحل مهم کلونینگ است که برای درست انجام شدن مراحل بعدی مانند ligation بسیار مهم می‌باشد.

تجهیزات مرتبط با هضم آنزیمی: سمپلر، بن ماری و ژل داک

خالص سازی از روی ژل (***Gel Extraction Or Gel Purification***): خالص‌سازی از ژل یک مرحله بعد از هضم آنزیمی است و ما می‌خواهیم در آن بفهمیم که آیا آنزیم ما درست عمل کرده است یا نه، به همین منظور محصول هضم آنزیمی را بر روی ژل می بریم و به عنوان کنترل مثبت هضم آنزیمی، از پلاسمید و ژن هضم نشده استفاده می‌کنیم. چون پلاسمید و ژن هضم نشده نسبت به پلاسمید و ژن هضم شده قطعه‌های بزرگتری هستند، در نتیجه در ژل باند مربوط به آن‌ها بالاتر قرار می‌گیرد. بعد از ران ژل، نوار مربوط به ژن و پلاسمید هضم شده مشخص شده و برش داده می‌شود تا بوسیله کیت خالص‌سازی، خالص‌سازی از ژل انجام شود. در کیت خالص‌سازی از مواد کائوتروپ استفاده می‌شود که این ماده باعث می‌شود DNA با بار منفی به ستون سیلیکا بچسبد و در مرحله بعد با آب‌دهی، DNA از ستون جدا شده و جمع‌آوری می‌شود.

تجهیزات مرتبط با خالص سازی از روی ژل: سمپلر و ژل داک

واکنش اتصال (***Ligation***): به جرات می‌توان گفت مهم‌ترین مرحله در کلونینگ، مرحله ligation است و کارهایی که در مراحل ابتدایی انجام می‌دهیم مانند PCR ژن مورد نظر، همه برای این است که کارایی مرحله ligation بالا برود. در واکنش ligation موادی که استفاده می‌شود شامل ژن هضم شده، وکتور هضم شده، آب، آنزیم و بافر مربوط به آنزیم است. آنزیم لیگاز مربوط به باکتری‌ها با یوکاریوت‌ها از این جهت متفاوت است که کوفاکتور مورد نیاز برای آنزیم لیگاز پروکاریوت‌ها ATP است و لیگاز مربوط به یوکاریوت‌ها نیاز به کوفاکتور NADH دارد. این آنزیم پیوند فسفودی استر را بین 5' P یک نوکلئوتید با 3' OH نوکلئوتید مجاور برقرار می‌کند. در ابتدا آنزیم از طریق آمینو اسید آرژنین خود، با فسفات گاما ATP پیوند برقرار کرده و یک پیروفسفات آزاد می‌شود. سپس 3' OH سر آزاد رشته مقابل به فسفات حمله کرده و فسفات از فسفات گاما کوفاکتور جدا و با 3' OH پیوند فسفودی استری جدید می‌دهد. اکثر واکنش ها در حجم ۱۰ ماکرولیتر انجام می‌شود. متناسب با طول توالی ژن هدف و طول توالی وکتور، میزان مشخصی، طبق فرمول زیر از هر کدام با هم مخلوط و در تماس با مخلوط آنزیمی برای اتصال قرار می‌گیرند.

$$\frac{\text{ng of vector} \times \text{kb size of insert}}{\text{kb size of vector}} \times \text{molar ratio of } \frac{\text{insert}}{\text{vector}} = \text{ng of insert}$$

ساختن سلول مستعد (***Competent Cell***): قبل از اینکه بخواهیم محصول ligation خود را ترانسفورم کنیم باید سلول های میزبان مورد نظر خود را مستعدگرفتن محصول ligation کنیم که در این مرحله از دو روش شیمیایی و الکتروپوریشن استفاده می‌شود. انتقال DNA به سلول‌ها در طبیعت به صورت طبیعی تنها در چند گونه مانند باسیلوس و استرپتوکوکوس اتفاق می‌افتد و روش صحیح برای انتقال DNA این است که قبل از انتقال، سلول‌ها را برای گرفتن توالی خارجی مستعد کنیم. برای مستعد کردن سلول‌های مختلف از مواد مختلفی استفاده می‌شود که برای باکتری‌ها از کلرید کلسیم و کلرید روبیدیوم، برای سلول‌های مخمری از کلرید لیتیم و استات لیتیم و برای سلول‌های جانوری از فسفات کلسیم استفاده می‌شود. به استفاده از مواد شیمیایی برای مستعد کردن سلول‌ها، روش شیمیایی مستعد کردن

سلول‌ها گفته می‌شود که معمولا برای انتقال وکتورهای کوچکتر از ده کیلوباز از این روش‌ها استفاده می‌شود و برای توالی‌های بزرگتر از روش الکتروپوریشن استفاده می‌شود.

کاربردهای ساختن competent در تحقیقات: مستعد کردن از مراحل مهم کلونینگ است و باید با دقت لازم انجام شود و برای وارد کردن توالی خارجی به داخل سلول میزبان استفاده می‌شود.

تجهیزات و دستگاه‌های مورد نیاز: سمپلر، سانتریفوژ و هود لامینار کلاس دو

ترانسفورماسیون (***Transformation***): در این مرحله محصول ligation برای ترانسفورم سلول competent مورد استفاده قرار می‌گیرد و بعد از ترانسفورم، محصول ترانسفورم روی محیط کشت آگار کشت داده می‌شود تا تک کلونی بدست بیاید. در نهایت از کلونی‌های بدست آمده، کلونی نوترکیب را انتخاب می‌کنیم. ترانسفورماسیون فرایندی است که یک ارگانیسم، DNA خارجی را بدست می‌آورد. ترانسفورماسیون می‌تواند از دو طریق رخ دهد: ترانسفورماسیون طبیعی و ترانسفورماسیون مصنوعی. ترانسفورماسیون طبیعی، جذب ترکیب DNA برهنه از محیط طبیعی سلول را توصیف می‌کند. ترانسفورماسیون مصنوعی طیف گسترده‌ای از روش‌های القای جذب DNA اگزوژن را در بر می‌گیرد. در پروتکل‌های کلونینگ، از ترانسفورماسیون مصنوعی برای معرفی DNA نوترکیب به باکتری میزبان استفاده می‌شود. متداول ترین روش ترانسفورماسیون مصنوعی باکتری‌ها شامل استفاده از کاتیون‌های دو ظرفیتی (به عنوان مثال کلرید کلسیم) برای افزایش نفوذپذیری غشای باکتری است و از این طریق احتمال دستیابی به DNA افزایش می‌یابد. یکی دیگر از روش‌های ترانسفورماسیون، الکتروپوریشن است که در آن سلول‌ها را با جریان الکتریکی شوک می‌دهند تا سوراخ هایی در غشای باکتری ایجاد شود. با استفاده از غشای سلولی که به تازگی به خطر افتاده است، DNA به داخل سیتوزول باکتری منتقل می شود. صرف نظر از این که از کدام روش ترانسفورم استفاده می‌شود، رشد باکتری ها، امکان ترمیم سطح باکتری ها و انتخاب سلول های نوترکیب را می‌دهد و البته این در صورتی است که DNA تازه بدست آمده مقاومت آنتی بیوتیکی را برای سلول ایجاد کند.

کاربرد ترانسفورماسیون در تحقیقات: ترانسفورماسیون از مراحل مهم کلونینگ است و باید با دقت لازم انجام شود که برای وارد کردن توالی خارجی به داخل سلول میزبانش استفاده می‌شود.

تجهیزات و دستگاه‌های مورد نیاز: سمپلر، هود لامینار کلاس دو، بن ماری و انکوباتور

تست ***BCA:*** سنجش پروتئین به روش Bicinchoninic Acid روشی است که برای اندازه گیری مقدار پروتئین در یک نمونه استفاده می‌شود. اصول روش بدین صورت است که پروتئین می‌تواند در یک محیط قلیایی، Cu^{+2} را به Cu^{+1} احیا کند (واکنش بیوره) و در حضور Bicinchoninic Acid منجر به تولید رنگ ارغوانی شود. رنگ ارغوانی حاصل از کمپلکس Cu^{+1}-BCA در طول موج 560 nm دارای جذب است. با استفاده از یک گراف استاندارد که همزمان با آزمایش تهیه می‌شود، می‌توان با توجه به میزان جذب قرائت شده مقدار پروتئین یک محلول را با واحد mg/ml (تقریباً ۲۰-۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) گزارش کرد. ساختار ماکرومولکولی پروتئین، تعداد پیوندهای پپتید و وجود چهار اسید آمینه خاص (سیستئین، تریپتوفان و تیروزین) مسئول تشکیل رنگ با BCA هستند. بر این اساس، غلظت یک پروتئین ناشناخته به طور کلی با استناد به نمودار استانداردهای یک پروتئین رایج مانند آلبومین سرم گاوی (BSA) تعیین و گزارش می‌شود. اگر مقدار کمی از پروتئین ناشناخته لازم باشد، توصیه می‌شود نمودار استاندارد پروتئینی را انتخاب کنید که از نظر کیفیت مشابه با ناشناخته باشد؛ به عنوان مثال، یک استاندارد گاما گلوبولین گاوی (BGG) ممکن است هنگام سنجش نمونه‌های ایمونوگلوبولین مورد استفاده قرار گیرد.

کاربرد BCA Assay در تحقیقات: BCA assay از تکنیک‌های مربوط به تعیین غلظت است و در مواردی برای سنجش میزان بیان پروتئین این تکنیک مهم می‌باشد.

تجهیزات و دستگاه‌های مورد نیاز: سمپلر، اسپکتروفتومتری

سنجش پروتئین به روش برادفورد (***Bradford protein assay***): سنجش پروتئین به روش برادفورد یک روش رنگ سنجی سریع، ساده، دقیق و حساس است که برای اندازه گیری غلظت پروتئین در محلول به کار می‌رود. این روش در سال ۱۹۷۶ توسط ماریون ام برادفورد ارایه گردید. اساس روش برادفورد بر تشکیل کمپلکس

بین رنگ آبی کماسی G-250 و پروتئین های موجود در محلول استوار است. رنگ آبی کماسی به سه شکل وجود دارد: فرم کاتیونی که قرمز رنگ است، فرم خنثی که سبز رنگ است و فرم آنیونی که آبی رنگ می‌باشد. در شرایط اسیدی، عمدتا رنگ، پروتونه و به فرم کاتیونی قرمز رنگ می‌باشد و در طول موج ۴۷۰ نانومتر بیشترین جذب را دارا است. اما زمانی که رنگ به پروتئین متصل می‌شود به فرم پایدار غیر پروتونه ی آبی رنگ تبدیل شده و در ۵۹۵ نانومتر دارای بیشترین جذب می‌باشد. در واقع اتصال رنگ به پروتئین و تشکیل کمپلکس رنگ - پروتئین باعث جابه جایی ماکزیمم جذب از ۴۷۰ نانومتر به ۵۹۵ نانومتر می‌شود. بنابراین اندازه گیری میزان جذب در ۵۹۵ نانومتر متناسب با غلظت پروتئین حاضر در محلول خواهد بود. با توجه به مطالعات صورت گرفته بر روی پلی آمینو اسیدهای ساختگی یا سنتتیک، ظاهرا رنگ آبی کماسی G-250 در درجه ی اول به واحدهای اسید آمینه بازی (به ویژه آرژینین و لیزین) و آروماتیک متصل می‌شود. در این روش تعدادی از مواد شیمیایی با ترکیب کوماسی و یا با پروتئین برهم کنش داشته و باعث ایجاد تداخل در سنجش می‌شوند. ترکیباتی که با رنگزا برهم کنش دارند، از طریق جابه جا کردن تعادل بین سه گونه ی رنگی مختلف کوماسی بلو باعث ایجاد تداخل می‌شوند. منابع شناخته شده ی این تداخلات شامل تعدادی از شوینده‌ها و یا دترجنت‌ها، فلاونوئیدها و بافرهای بازی هستند که از طریق اتصال مستقیم و یا تغییر pH باعث پایدار شدن گونه ی خنثی سبز رنگ می‌گردند. با این وجود، اگر مراحل انجام آزمایش به صورت استاندارد انجام شود بسیاری از معرفهای شیمیایی اثر مستقیمی روی رنگ ندارند. قاعدتا امکان بررسی میزان برهم کنش مواد شیمیایی با تک تک پروتئین‌ها وجود ندارد. از این رو این احتمال وجود دارد که هر یک از معرفهای شیمیایی با پروتئین خاصی برهم کنش داشته و تداخل ایجاد کنند. اما با توجه به پروتئین‌هایی مانند آلبومین سرم گاوی (BSA) و گاما- گلوبولین گاوی، تداخلات ناچیز گزارش شده است. در هر یک از روش های سنجش پروتئین، در حالت ایده آل، پروتئینی که به عنوان استاندارد استفاده می‌شود باید پروتئین خالص شده‌ای از همان پروتئین مورد سنجش باشد. در غیاب چنین استانداردی، سایر پروتئین ها به عنوان استانداردهای نسبی استفاده می‌شوند. بهترین استاندارد نسبی پروتئینی است که رنگی مشابه پروتئین مورد سنجش ایجاد کند. انتخاب یک چنین پروتئینی عموما تجربی است. اگر فقط مقدار نسبی پروتئین مدنظر باشد، هر پروتئین خالصی می‌تواند به عنوان استاندارد استفاده شود. دو پروتئینی که معمولا به عنوان استاندارد استفاده می‌شوند، BSA و گاما- گلوبولین هستند. از مزایای روش برادفورد این است که چون کمپلکس رنگ - پروتئین ضریب خاموشی (ε) بالایی دارد، حساسیت روش در اندازه‌گیری پروتئین افزایش می‌یابد. از طرفی اتصال رنگ به پروتئین فرآیند بسیار سریعی بوده (حدود ۲ دقیقه) و کمپلکس رنگ - پروتئین برای مدت نسبتا طولانی (حدود ۱ ساعت) در محلول پایدار مانده و رسوب نمی‌کند. این ویژگی ها باعث می‌شود که روش بسیار سریع انجام شود و نیازی به انجام دادن سریع تست نباشد. میزان جذب کمپلکس آبی پروتئین - رنگ در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از میکروپلیت ریدر خوانده شده و مبنای گزارش غلظت پروتئین قرار می‌گیرد. سنجش پروتئین به روش بردفورد می‌تواند مقادیر پروتئین را به حداقل ۱ تا ۲۰ میکروگرم اندازه گیری کند.

کاربرد تست برادفورد در تحقیقات: تست برادفورد از تکنیک‌های مربوط به تعیین غلظت است و در مواردی برای سنجش میزان بیان پروتئین این تکنیک مهم می‌باشد.

تجهیزات و دستگاه‌های مورد نیاز: سمپلر، اسپکتروفتومتری

SDS-PAGE: روشی است که برای جداسازی پروتئین‌های موجود در یک نمونه بر اساس وزن مولکولی استفاده می‌شود و یک پیش‌نیاز برای روش وسترن می‌باشد. SDS-PAGE یک روش تحلیلی برای جدا کردن پروتئین‌ها بر اساس وزن مولکولی آنها است. هنگامی که پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز از طریق یک ماتریکس ژل جدا می شوند، پروتئین های کوچکتر به دلیل مقاومت کمتری که دارند در ژل سریعتر حرکت می‌کنند. از عوامل تاثیر دیگر بر میزان مهاجرت ژل، شامل ساختار و بار پروتئین‌ها است. در SDS-PAGE، با استفاده از سدیم دودسیل سولفات سدیم (SDS)، همچنین با نام سدیم لوریل سولفات هم شناخته می‌شود و ژل پلی آکریل آمید تا حد زیادی تاثیر ساختار و بار از بین می‌رود و پروتئین‌ها صرفاً بر اساس طول زنجیره پلی پپتیدی از هم جدا می‌شوند.

SDS یک ماده شوینده با خاصیت پروتئین زدایی قوی است و زمانی که SDS در مقدار زیاد به یک محلول پروتئینی افزوده می‌شود، پروتئین ها میسل های آنیونی با بار منفی ثابت نسبت به واحد جرم تشکیل می‌دهد. ساختار چهارم و سوم میشکند و پلی پپتیدها واپیچیده می شوند. برای واپیچیدگی کامل، پیوندهای دی- سولفیدی بین رزیدوهای سیستئین نیز باید با بتامرکاپتواتانول و یا DDT شکسته شود. در طی الکتروفورز، تمامی پپتیدها به سمت آند حرکت می‌کنند و سرعت حرکتشان تابع وزن مولکولیشان می‌شود. آکریلامید پلیمریزه (پلی آکریل آمید) یک ماتریکس شبکه مانند مناسب برای جداسازی پروتئین‌هایی با اندازه معمولی تشکیل می‌دهد. استحکام ژل امکان کنترل آسان را فراهم می‌آورد. الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید به محققان اجازه می دهد پروتئین‌ها را بر اساس طول آنها به روشی آسان، ارزان و نسبتاً دقیق از هم جدا کنند.

کاربرد SDS PAGE در تحقیقات: SDS PAGE تکنیک مربوط به جداسازی پروتئین‌هاست و در مواردی که هدف شما بیان پروتئین و در نهایت انجام وسترن بلاتینگ است این تکنیک جزو ملزومات کار شما می‌باشد.

تجهیزات و دستگاه‌های مورد نیاز: سمپلر، دستگاه مربوط به ران ژل SDS PAGE

Western Blot: وسترن بلات که بعضاً به آن ایمونوبلوت پروتئین گفته می‌شود، یک روش آزمایشگاهی است که برای تشخیص مولکولهای خاص پروتئین از میان مخلوطی از پروتئین ها استفاده می‌شود که به طور گسترده در زیست شناسی سلولی و مولکولی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این مخلوط می تواند شامل تمام پروتئین های مرتبط با یک بافت یا نوع سلول خاص باشد. از وسترن بلات نیز می توان برای ارزیابی اندازه پروتئین مورد نظر و برای اندازه گیری میزان بیان پروتئین استفاده کرد. این تکنیک به طورخلاصه در ۳ مرحله: ۱) جداسازی پروتیئن ها بر اساس سایز مولکولی ۲) انتقال پروتئین ها به غشای محافظ سخت ۳) نشاندار کردن پروتئین مورد نظر با استفاده از آنتی بادی اولیه و ثانویه مناسب برای آشکارسازی، انجام می‌شود. اولین قدم در وسترن بلات آماده سازی نمونه پروتئین با مخلوط کردن آن با مواد شوینده‌ای به نام سدیم دودسیل سولفات است که باعث می شود پروتئین ها در زنجیره ها و پالت های خطی و سپس با بار منفی باز شوند. در مرحله بعد، مولکول های پروتئین با توجه به اندازه آنها با استفاده از روشی به نام SDS PAGE از هم جدا می شوند. پس از جداسازی، پروتئین ها از ژل روی یک غشای بلات منتقل می شوند. اگرچه این مرحله همان چیزی است که به تکنیک نام وسترن بلات می دهد، اما معمولاً این اصطلاح برای توصیف کل روش استفاده می شود. پس از اتمام انتقال، ژل همه باند های پروتئینی را در اصل روی غشاء قرار می دهد. در مرحله بعد، غشا وارد مرحله ای به نام مسدود کردن می شود که از بروز هرگونه واکنش غیر اختصاصی جلوگیری می کند. سپس غشاء با آنتی بادی به نام آنتی بادی اولیه انکوبه می شود که به طور خاص به پروتئین مورد نظر متصل می شود. پس از انکوباسیون، هر آنتی بادی اولیه غیر متصل شسته می شود، و غشا دوباره انکوبه می شود، اما این بار با یک آنتی بادی ثانویه که به طور خاص با آنتی بادی اولیه شناخته و متصل می شود. آنتی بادی ثانویه به یک آنزیم گزارشگر که رنگ یا نور تولید می کند، مرتبط می شود و به راحتی امکان شناسایی و تصویربرداری از آن فراهم می شود. این مراحل باعث می شود پروتئین خاصی از میان مخلوطی از پروتئین ها شناسایی شود.

کاربرد وسترن بلات در تحقیقات: وسترن بلات تکنیک مربوط به شناسایی پروتئین‌هاست و در مواردی که هدف شما تایید بیان پروتئین است این تکنیک جزو ملزومات کار شما می‌باشد.

تجهیزات و دستگاه‌های مورد نیاز: سمپلر، دستگاه مربوط به ران ژل SDS PAGE، شیکر

استخراج پلاسمید (***plasmid***): تخلیص پلاسمیدها از کشت باکتری و سلول های یوکاریوتی مانند روش کلی تهیه کل DNA از سلول است. سلول های باکتریایی و یوکاریوتی (مخمر) در محیط کشت رشد داده می‌شوند و بعد از گرفتن رسوب سلول ها، لازم است که DNA پلاسمیدی از مقدار زیادی DNA باکتریایی موجود در سلول جدا شود. تخلیص پلاسمیدها از کشت باکتری مانند روش کلی تهیه کل DNA از سلول است. ابتدا سلول های باکتریایی در محیط کشت رشد داده می‌شوند. رسوب سلول ها جمع آوری و یک عصاره سلولی آماده می‌شود که برای تخلیص پلاسمید مورد استفاده قرار می‌گیرد. در استخراج پلاسمید لازم است که DNA پلاسمیدی از مقدار زیادی DNA باکتریایی موجود در سلول جدا شود. جداسازی دو DNA کار بسیار دشواری است، اما وقتی قرار است پلاسمید برای کلون‌سازی مورد استفاده قرار گیرد، وجود کمترین میزان آلودگی نتایج نامطلوبی به همراه دارد. روش‌های جداسازی پلاسمید بر اساس تفاوت‌های فیزیکی بین پلاسمید و DNA باکتری طراحی شده است.

جداسازی بر اساس اندازه: پلاسمید از لحاظ اندازه چیزی حدود هشت درصد اندازه DNA باکتریایی است که از این خاصیت برای جداسازی استفاده می‌شود. در این روش سلول‌ها تحت شرایط کنترل شده تجزیه شده که در نهایت تعداد کمی از DNA سلول شکسته شده که حتی در این حالت هم از پلاسمید بزرگتر است. پس از لیز سلولی، سانتریفوژ باعث رسوب DNA باکتری و عصاره سلولی می‌شود و پلاسمید در محیط رویی باقی می‌ماند.

جداسازی بر اساس ساختار فضایی: این مطلب که پلاسمیدها دارای ساختار حلقوی هستند درست نیست. بیشتر پلازمیدها در سلول به شکل مولکول‌های ابرمارپیچ وجود دارند که در حالت طبیعی به آن حلقوی بسته کولانسی گفته می‌شود و چنانچه در صورت ایجاد شکست در یکی از رشته‌ها ساختار دیگری به نام ساختار حلقه باز شکل می گیرد. این ساختار فضایی در جداسازی پلازمید دارای اهمیت است که از دو روش دناتوره کردن قلیایی و اتیدیوم بروماید - سزیم کلرید استفاده می‌شود.

کاربردهای استخراج پلاسمید در تحقیقات: استخراج پلاسمید یکی از اولین مراحل کلونینگ است که برای درست انجام شدن مراحل بعدی مانند هضم آنزیمی و ligation بسیار مهم می‌باشد.

تجهیزات و دستگاه‌های مورد نیاز: هود لامینار، سمپلر، سانتریفیوژ، مینی فیوژ

کشت باکتری (***Bacteria Culture***): کشت باکتری برای انواع گونه ها و سویه های باکتری مورد استفاده برای کلونینگ و بیان انجام می گیرد که از محیط کشت مایع و جامد استفاده می شود. زمانی که باکتری‌ها در شرایطی قرار بگیرند که در آن شرایط بتوانند رشد و تکثیر پیدا کنند گفته می‌شود باکتری‌ها کشت داده شده اند. میکرب‌ها و باکتری‌ها توانایی این را دارند که به صورت مستقل و به عنوان یک سلول آزاد تمام احتیاجات خود را برطرف کنند، در نتیجه برای زنده ماندن نیاز به مواد آلی و معدنی برای رشد و متابولیسم دارند. به این محیط مغذی برای رشد و تکثیر باکتری، محیط کشت گفته می‌شود. باکتری‌ها را با توجه به نوع هدف کشت آنها می‌توان به صورت مایع در ظروف شیشه‌ای لوله‌ای و یا بر روی محیط آگاردار جامد در درون پلیت کشت داد. اغلب کشت باکتری‌ها در محیط کشت‌های عادی و معمولی انجام می‌شود، اما گاهی اوقات برای تکثیر سریع باکتری، مواد مغذی مانند خون گوسفند به صورت استریل بعد از اتوکلاو محیط کشت عادی به آن اضافه می‌شود و به این محیط کشت، محیط کشت غنی گفته می‌شود. به محیط کشت‌هایی که مواد لازم برای رشد باکتری‌ها را دارند و بیش از هشتاد درصد باکتری‌ها بر روی آن رشد می‌کند، محیط کشت کامل می‌گویند و یکی از بهترین مثال‌ها در این زمینه محیط کشت لوریا برتانی براث (LB Broth) و نوترینت آگار است. آگار نوعی پودر با ساختمان پلی‌ساکاریدی است که میتواند حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد را به خوبی تحمل کند و برای میکرب قابل هضم نمی‌باشد.

کاربردهای کشت باکتری در تحقیقات و پزشکی: کشت باکتری اولین مرحله برای انجام تحقیقات بر روی باکتری‌ها می باشد و یکی از استفاده‌های مهم آن در پزشکی برای شناسایی نوع باکتری بیماری‌زا است که از محیط‌کشت‌های مختلفی برای شناسایی انواع مختلف باکتی استفاده می‌شود.

تجهیزات و دستگاه‌های مورد نیاز: هود لامینار، سمپلر، سانتریفیوژ، مینی فیوژ

آزمایشگاه بیومارکرهای مولکولی (Molecular biomarkers Laboratory):

استخراج *DNA* از میکروارگانیسم ها، خون، رده های سلولی، بافت تازه، بافت پارافینه: استخراج DNA به عنوان اولین مرحله در تحقیقات و بررسی های ژنتیکی به منظور مطالعه علت ژنتیکی بیماری ها، تعیین توالی ژنوم و تشخیص باکتری ها و ویروس ها و انجام آزمایشات پدر- مادری و علم پزشکی قانونی از اهمیت اساسی برخوردار است. اهمیت وجود DNA برای یک ژنتیک دان را می توان با اهمیت وجود بوم برای یک نقاش همانند دانست. همانطور که اگر بومی برای نقاشی وجود نداشته باشد دیگر هیچ زمینه ای برای ترکیب رنگ های متنوع و خلق آثار هنری وجود نخواهد داشت به همین ترتیب اگر DNA ای هم نباشد همه تکنیک ها و روش ها در آزمایشگاه ژنتیک بی معنی خواهد بود.

در استخراج ***DNA*** از خون به روش ***Salting-Out:*** ابتدا گلبول های قرمز خون را به کمک Lysis Buffer های مخصوص لیز کرده و سانتریفوژ انجام می دهند. رسوب گلبول های سفید را نیز با استفاده از محلول Lysis Buffer که حاوی دترجنت های غیر یونی است به همراه پروتئیناز K تحت گرمای انکوباتور حل می کنند. سپس به کمک نمک NaCl غلیظ DNA را از سایر اجزای سلولی به کمک سانتریفوژ طی دو مرحله جدا ساخته در نهایت به وسیله الکل DNA را از فاز آبی خارج کرده و با الکل اتانول ۷۰ درصد دو بار شست و شو می دهند.

در استخراج ***DNA*** به روش فنول کلروفرم: بعد از لیز گلبول های سفید به کمک Lysis Buffer از فنول به منظور جداسازی اسید نوکلئیک و دناتوره کردن پروتئین ها استفاده می شود. برای تکمیل این فرآیند در مرحله بعد کلروفرم اضافه شده و در نهایت با الکل DNA را رسوب می دهند.

در روش های استخراج ***DNA*** به وسیله کیت: نیز مواد مورد نیاز داخل جعبه کیت قرار داده شده و امکانات و تجهیزات دستگاهی برای اجرای پروتکل داخل کیت در آزمایشگاه مهیا می باشد. DNA استخراج شده حاصل از هرکدام از روش ها در نهایت به کمک حلال های مناسب همچون بافر Tris-EDTA و Elution Buffer های مناسب به وسیله دستگاه Dry-Block حل شده و برای سنجش کیفیت-کمیت به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر و الکتروفورز آماده می شود. با استفاده از هرکدام از روش های ذکر شده در نهایت DNA مطلوب حاصل می شود. باید توجه داشت که DNA نمونه ها باید ارزیابی شوند. اگر هدف تعیین غلظت کمی DNA باشد می توان از روش تعیین غلظت با اسپکتروفوتومتری استفاده نمود. در تعیین غلظت با اسپکتروفوتومتری پس از استخراج، مولکول DNA به عنوان یک کروموفور در نظر

گرفته می شود که در طول موج ۲۶۰ نانومتر جذب دارد و با تابش طول موج در همین محدوده و بررسی جذب DNA استخراج شده، غلظت آن تعیین می گردد. تعیین غلظت با اسپکتروفوتومتری در انواع روش های استخراج DNA کاربرد داشته و باید توجه داشت در انواع استخراج از چه فاکتور هایی استفاده می شود. عموماً در روش های مختلف استخراج دو نوع آلودگی مطرح است. آلودگی ممکن است از نوع پروتئینی و یا مواد آلی باشد. زمانی که DNA استخراج شده با روش اسپکتروفوتومتری تعیین غلظت می شود، می توان جذب DNA استخراج شده را در محدوده های طول موجی مربوط به آلودگی ها بررسی کرد و اگر در آن محدوده ها جذب داشت نشان دهنده وجود آلودگی می باشد. لذا استخراج و تخلیص DNA بسیار مهم است چرا که آلودگی های مختلف احتمالی در انواع استخراج وجود داشته و باید همیشه روش هایی که کمترین احتمال آلودگی را دارند انتخاب شوند.

کاربرد های DNA در تحقیقات و پزشکی: DNA ماده اولیه مورد نیاز در انواع روش های بررسی ژنومیک در سلول های انسان و یا هر موجود دیگری از جمله گیاه، باکتری و ویروس می باشد و ماده مورد نیاز در روشهایی مانند انواع PCR ها، روش های تعیین توالی، پزشکی قانونی و تعیین هویت است.

استخراج ***RNA*** از میکروارگانیسم ها، خون، رده های سلولی، بافت تازه**:** استخراج RNA مرحله‌ای کلیدی در تحقیقات و بررسی های ژنتیکی به منظور دستیابی به بیان ژن، تنظیمات مرتبط در بیان ژن و ترجمه بوده و از اهمیت بالایی برخوردار است. فارغ از اصول استخراج RNA، پروتکل های مختلف عموماً اشتراکاتی دارند. ابتدا به ساکن و به عنوان یک قانون عمومی، نمونه های مورد مطالعه باید با هوشیاری و دقت بالا هندل شوند. در تمامی پروتوکل ها، همواره ضروری است که نمونه بصورت مکانیکی یا آنزیمی خرد و هضم و همگن سازی شود. همچنین همواره باید حفظ RNA از آنزیم های RNase مورد توجه قرار بگیرد. RNase های با منشا خارجی را می توان با استفاده از دستکش و نیز استفاده از ظروف و مواد RNase-free مهار کرد. RNase های با منشا درون سلولی را نیز می توان با مهارکننده های شیمیایی مهار کرد. رایج ترین ترکیب برای حصول این منظور، گوانیدین ایزوتیوسیانات است.

RNA مولکول بسیار ناپایداری است که وظیفه آن انتقال اطلاعات ژنتیکی از DNA به ریبوزوم ها است. با توجه به ناپایداریRNA فرآیند استخراج RNA همواره مرحله ای بسیار حساس هست و عموما با مشکلاتی همراه است. بزرگترین مشکلی که در انجام استخراج RNA ممکن است با آن روبرو شوید، شکستن و خرد شدن (RNA degradation) است. در حین انجام مراحل استخراج ضربات شدید و کم فرکانس (مانند ورتکس شدید) می تواند منجر به تخریب RNA شود. گرما نیز می تواند موجب تخریب مولکول های RNA شود. همچنین آلودگی به فنول و سایر مواد آلی از آلودگی های RNA است. منشاء فنول بخصوص در هنگام استفاده از ترایزول، فنول موجود در ترایزول است. برای رفع این آلودگی می توان مدت زمان انکوباسیون در کلروفرم را افزایش داد. آلودگی پروتئین در ردیف بعدی آلودگی های رایج RNA قرار دارد. همچنین آلودگی DNA ژنومیک در هنگام استخراج RNA نیز می تواند منشاء مشکلات آزمایشات بیان ژن باشد. برای تخمین استخراج RNA از دو فاکتور استفاده می شود نسبت جذب ۲۶۰/۲۳۰ برای الودگی فنول و مواد آلی و نسبت ۲۶۰/۲۸۰ برای آلودگی پروتئین استفاده می شود. در یک استخراج خوب، نسبت ۲۶۰/۲۸۰ در دامنه ی ۲/۲-۱/۸ و نسبت ۲۶۰/۳۳۰ نیز دردامنه‌ی۲/۲- ۱/۸ قرار دارد.

تجهیزات مرتبط با استخراج RNA: سمپلر، اسپکتوفوتومتر، التراسانتریفیوژ یخچال دار، اسپین - ورتکس

تعیین غلظت و خلوص اسیدهای نوکلئیک با دستگاه خوانش ***OD*** یا ***Nano Drop:*** هر ماده ی حل شونده در یک محلول دارای یک غلظت مشخص می باشد که به منظور مطالعات آتی بر روی آن محلول، نیازمند داشتن اطلاعات کافی در مورد غلظت ماده‌ی حل شونده می باشیم. قانون بیر-لامبرت یک قانون کلی برای تعیین غلظت مواد می باشد که به اسم دانشمندانی که اولین بار این قانون را بدعت گذاری نمودند، نامیده شده است. بیر و لامبرت نشان دادند که میزان جذب نوری با غلظت ترکیب مورد نظر رابطه مستقیم دارد. اسپکتروفوتومتری یکی از مهم ترین دستگاه هایی است که به منظور تعیین غلظت مواد مورد استفاده قرار می گیرد. اساس کار دستگاه اسپکتروفوتومتری تابش نور با طول موج مشخص و تعیین جذب نوری توسط محلول می باشد. در دستگاه اسپکترو فوتومتر میزان هدر رفت محلول صرفاً برای کنترل و تعیین غلظت زیاد بوده و تعداد دفعات مورد نیاز برای تعیین غلظت نمونه های مختلف زیاد می باشد. برای رفع این مشکل از دستگاهی با نام دستگاه خوانش الایزا (ELISA Reader) و یا نانودراپ (NanoDrop) استفاده می شود. اساس کار دستگاه نانودراپ همانند دستگاه های اسپکتروفوتومتر می باشد که معایب فوق الذکر دستگاه اسپکتروفوتومتر را رفع نموده است. دستگاه نانودراپ می تواند جذب چندین نمونه را با دقت بسیار بالا به طور همزمان اندازه گیری کند. از این دستگاه در انجام تست های الایزا استفاده می شود که می تواند تا ۹۶ نمونه را همزمان مورد بررسی قرار دهد. دستگاه نانودراپ (NanoDrop) قابلیت اتصال به کامپیوتر را داراست و با نرم افزار های مرتبط لینک شده و تمام محاسبات را به شکل خودکار انجام می دهد.

کاربردهای دستگاه نانو درآپ در تحقیقات مختلف: حوزه های ژنومیکس، حوزه های پروتئومیکس، Drug discovery، تشخیص مولکولی، Bio-manufacturing

تجهیزات مرتبط با نانودراپ: سمپلر، نانودراپ

cDNA: سنتز cDNA اولین گام در بسیاری از پروتکل های زیست شناسی مولکولی، از جمله آنالیز بیان ژن با استفاده از Real-Time PCR است. کیفیت آزمایش های مرحله بعدی، نیازمند تولید cDNA با کیفیت بالا است. کیت های سنتز cDNA فرآیند رونویسی معکوس را آسان تر و سریع تر کرده اند. در سنتز cDNAدو نکته بسیار حائز اهمیت است، انتخاب نوع پرایمر و آنزیم رونوشت بردار معکوس. عموماً پرایمر های Random hexamer و Oligo (dT) در سنتز cDNAمورد استفاده قرار می گیرند. در شرایط خاصی ممکن است پرایمرهای اختصاصی نیز استفاده شود Oligo (dT) توالی های تکراری حاوی باز تیمین هستند، این پرایمرهای توانایی اتصال به دم poly-A در انتهای رشته های mRNA را دارند. پرایمرRandom hexamer، توالی هایی با ۶ باز و با توالی های اتفاقی هستند که می توانند به هر جایی در هر رونشت RNA متصل شده و محل آغاز فعالیت آنزیم رونوشت بردار معکوس را فراهم کنند. سنتز cDNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی بالاترین اختصاصیت را ایجاد میکند، با این حال، cDNA سنتز شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای سایر آزمایشات قابل استفاده نیست. آنزیم رونوشت بردار معکوس فعالیت های متعددی دارد. فعالیت DNA پلی مرازی وابسته به RNA این آنزیم، مسئول ساخت رشته‌ی اول cDNA می باشد. آنزیم نسخه بردار معکوس همچنین دارای خاصیت DNA پلی مرازی وابسته به DNA هست. خاصیت سوم این آنزیم، فعالیت نوکلئازی شامل RNaseH است که منجر به تخریب RNAموجود در هیبرید RNA-DNA می شود. **در کیت های مختلف، از دو نوع آنزیم رونوشت بردار معکوس استفاده می شود:**

Avian myeloblastosis virus (AMV) reverse transcriptase

Molony murine leukemia virus (MMLV) reverse transcriptase

MMLV فاقد عملکرد اگزونوکلئازی ۵ به ۳ است.

کاربرد های سنتز cDNA در تحقیقات و پزشکی: تاسیس کتابخانه های cDNA، مطالعات آنالیز بیان ژن مانند RT-PCR و Real time PCR

تجهیزات مرتبط با سنتز cDNA: سمپلر، ترمال سایکلر، اسپین - ورتکس

انواع ***PCR*** از قبیل ***ARMS-PCR, PCR-RFLP, RT-PCR:*** واکنش زنجیره ی پلیمراز یا (Polymerase Chain Reaction) از جمله کلیدی ترین و پرکاربردترین تکنیک های مورد استفاده در زیست‌شناسی مولکولی است که به منظور تکثیر یک یا چند قطعه DNA با توالی خاص به تعداد زیاد به کار می‌رود. امروزه استفاده از PCR به عنوان مقدمه‌ای برای انجام توالی یابی و شناسایی و تشخیص بیماری های ژنتیکی و نظارت بر درمان آن ها به کار می رود. روش PCR در واقع سنتز آنزیمی یک رشته DNA به وسیله DNA پلی مراز است که در سیکل های دمایی متعدد به منظور تکثیر و بزرگنمایی قطعه DNA مورد هدف، انجام می گردد. سیکل ها به ترتیب شامل مرحله واسرشت شدن DNA دورشته‌ای، اتصال پرایمرها به جایگاه هدف خود روی DNA تک رشته و سپس تکثیر DNA به وسیله آنزیم Taq polymerase و سنتز دو رشته جدید از یک رشته اولیه می باشد. دستگاه های ترمال سایکلر پیشرفته امروزی با قابلیت بالا و پایین بردن دما در کسری از ثانیه، قادر به انجام PCR تنها در مدت یک تا دو ساعت هستند. همچنین دستگاه های ترموسایکلر کنونی با بهره‌گیری از سیستم گرمایشی بالا در ناحیه درپوش با دمای ۱۰۵ درجه از تبخیر نمونه های PCR جلوگیری کرده و آزمایش را از استفاده از روغن های PCR مبرا می سازند. در روش RFLP اطراف ناحیه جهش توسط پرایمرهای اختصاصی ابتدا PCR می شوند، سپس محصولات PCR شده در معرض آنزیم هضم کننده یا محدودکننده قرار می گیرند. آنزیم محدودکننده توالی های حاوی نوکلئوتید جهش یافته را بریده و در مقابل توالی های دارای نوکلئوتید وحشی را برش نمی دهد و با بالعکس. بر این اساس با ران کردن قطعات روی ژل الکتروفورز و بررسی تفاوت در سایز آن ها، افراد را از نظر بیمار، سالم و یا ناقل بودن تعیین ژنوتیپ می کنند. روش ARMS-PCR تنها با یک ران PCR بدون نیاز به آنزیم محدودکننده انجام می شود که به علت عدم استفاده آنزیم صرفه اقتصادی دارد. انجام ARMS-PCR به وسیله سه پرایمر که یکی مختص الل سالم یکی مختص الل وحشی و دیگری مشترک برای هر دو پرایمر قبلی است صورت می گیرد. در این روش نیز برای بررسی نتایج نمونه های PCR شده را الکتروفورز می کنند، عدم تشکیل باند روی ژل یعنی پرایمر مختص الل مورد نظر متصل نشده و نمونه، فاقد آن الل می باشد و بالعکس. به دلیل اینکه در تکنیک ARMS طول محصول PCR در صورت وجود یا عدم وجود الل جهش یافته همسان است؛ بنابراین روی ژل قابلیت تفکیک ندارد و به اجبار می بایست آزمایش را برای هر نمونه دوبار (یک بار با جفت پرایمر

های جهش یافته و مشترک و یک بار با جفت پرایمر غیر جهش یافته و پرایمر مشترک) تکرار کرد. انجام Tetra-ARMS PCR این محدودیت را به کمک طراحی چهار پرایمر که با فاصله های متفاوت از هم قرار گرفته اند و به وسیله PCR و سپس الکتروفورز در یک میکروتیوب قابل تشخیص است، جبران کرده است.

کاربرد های تکنیک PCR: تشخیص بیماری های ژنتیکی، تشخیص عفونت های ویروسی و باکتریایی، انگشت نگاری ژنتیکی و تعیین هویت در پزشکی قانونی، تعیین جنسیت، تشخیص جهش ها و واریانت های ژنتیکی

تجهیزات مرتبط با سنتز cDNA: سمپلر، مینی فیوژ، ترمال سایکلر

بررسی کمی ژن ها با ***Real-Time PCR*** و انالیز داده ها ***Real-Time PCR:*** که با نام های RT-qPCR یا qPCR نیز شناخته می شود، یکی از قدرتمندترین و حساس ترین تکنیک های آنالیز ژن است. در هر واکنش Real time PCR، یک مولکول فلورسانت گزارشگر موجود است که تجمع محصول PCR را مانیتور میکند. پروب های TaqMan و رنگ SYBR Green رایج ترین گزارشگرها هستند. همزمان با افزایش تعداد قطعات تکثیر شونده، میزان فلورسانس ساطع شده توسط گزارشگر نیز افزایش می یابد.

شاخص ترین نقاط مثبت Real time PCR عبارتند از:

- تولید دیتای کمی بسیار دقیق

- دامنه پویای بالا در تشخیص

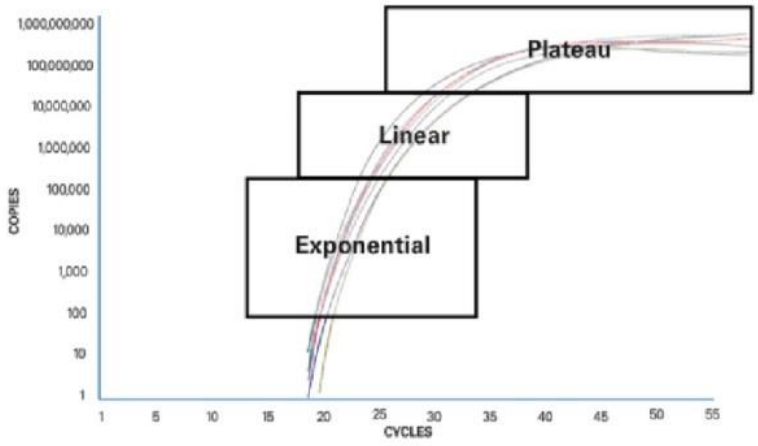
- حذف فرآیند های post-PCR

- تشخیص قطعاتی که حتی یک رونوشت از آن ها در نمونه حضور دارد.

- دقت بسیار بالا و تشخیص کمترین مقادیر تغییر در فراوانی رونوشت ها

- بازدهی بالا

درPCR ، تکثیر قطعات همواره مطابق الگوی زیر انجام می شود.



فاز تصاعدی (Exponential): شامل چرخه هایی است که در آن ها بازدهی تکثیر بالا و ثابت است. اگر در گرافی، لگاریتم مقدار محصول در برابر شماره سیکل رسم شود، گراف حاصل از فاز تصاعدی خطی خواهد بود. در این فاز، در هر سیکل مقدار محصول دقیقا دو برابر می شود (در چنین شرایطی گفته می شود بازدهی

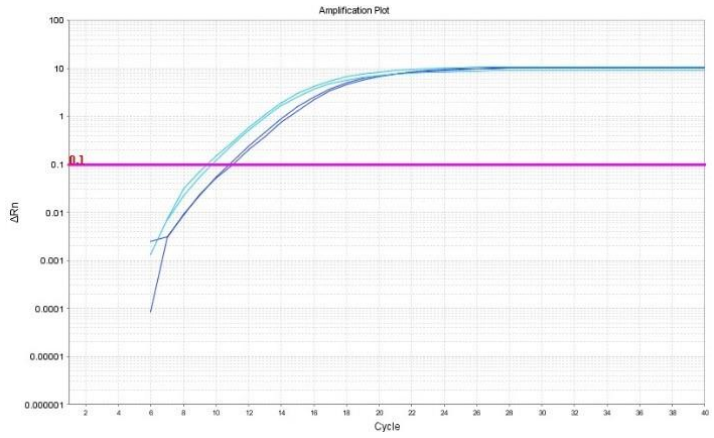
واکنش ۱۰۰ درصد است). تکثیر تصاعدی در این فاز، به دلیل وفور و تازگی اجزای واکنش است و کینتیک واکنش، واکنش را به سمت دو برابر شدگی محصولات در هر سیکل هدایت می کند.

فاز خطی (Linear): شامل سیکل هایی است که در آن شیب گراف تکثیر همواره رو به کاهش می رود. این فاز به دلیل آن که محصول بصورت حسابی (و نه تصاعدی) افزایش پیدا می کند، خطی نامیده می شود. همزمان با پیشرفت واکنش و مصرف مواد واکنش، بازدهی واکنش و تولید محصول کم کم کاهش پیدا می کند و مقدار محصول در هر سیکل الزاما دو برابر نمی شود.

فاز سکون (Plateau): واکنش متوقف شده و دیگر محصولی تولید نمی شود و سیگنال گزارشگر ثابت می ماند. اگر تیوب واکنش ها در شرایط واکنش بمانند، محصولات تخریب می شوند. تیوب های متفاوت در نقاط مختلفی به فاز پلاتو می رسند؛ به علت تفاوت کینتیک واکنش ها در تیوب های مختلف، در PCR معمولی، نتیجه گیری و گزارش براساس مقدار محصول در فاز پلاتو انجام می شود.

بر خلاف PCR معمولی، Real time PCR بر روی فاز تصاعدی تمرکز می شود. این فاز دقیق ترین و حساس ترین گزارش برای کمی سازی داده ها را فراهم می کند. در این فاز، دستگاه های Real time PCR دو مقدار را اندازه گیری می کنند:

آستانه (Threshold): سطحی که در آن یک واکنش به شدتی از فلورسانس که بالاتر از سیگنال پایه باشد، می رسد.



سیکل آستانه (C_t): آنالیز دیتای Real time PCR بر اصل سیکل آستانه استوار است، سیکلی که در آن مقدار سیگنال فلورسانت حاصل از تجمع محصولات PCR از مقدار آستانه عبور می کند. نمونه هایی که تعداد رونوشت های الگوی تکثیر در آن ها بیشتر است، در سیکل های پایین تری نسبت به نمونه هایی که رونوشت های هدف کمتری دارند، به آستانه می رسد.

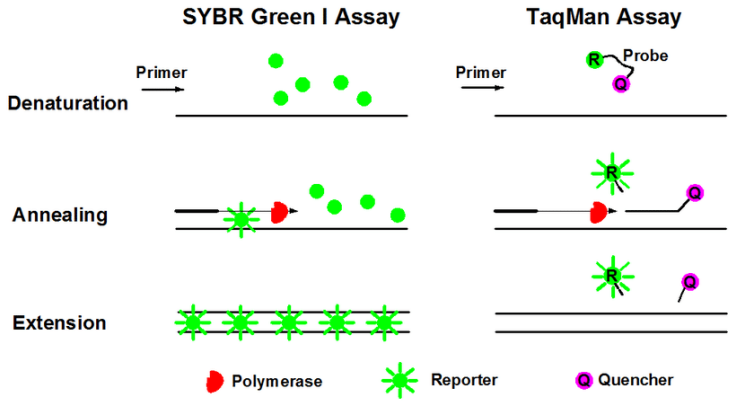
از این جهت، مقدار C_t به ۲ فاکتور وابسته است:

- فراوانی رونوشت هدف در شروع واکنش

- بازدهی تکثیر در PCR

سایبر گرین: رنگ SYBR™ Green رایج ترین رنگ مورد استفاده در Real time PCR است. این رنگ، با اتصال به DNA دورشته ای تولید شده در PCR، تولید و تجمع محصول را ردیابی می کند. مکانیزم عمل این رنگ به شرح زیر است، سایبر گرین وقتی به dsDNA متصل می شود، عملکرد فلورسانتی خود را اعمال می کند. در طی PCR و با عملکرد آنزیم Taq DNA Polymerase، رونوشت هدف تکثیر می شود. با پیشرفت واکنش، مقدار بیشتری محصول تولید می شود SYBR™ Greenبه تمام dsDNA های تولید شده متصل می شود و در نتیجه شدت سیگنال فلورسانس متناسب با مقدار محصولات تولید شده افزایش می یابد.

پروب TaqMan: پروب TaqMan از جمله مهمترین پروب های مورد استفاده در Real time PCR است. اساس این روش خاصیت ' Exonuclease Activity 5 آنزیم Taq DNA Polymerase می باشد. یک Reporter در انتهای '5 و یک Quencher درانتهای '3 وجود دارد. در انتهای '3 یک بلاکر هم وجود دارد این بلاکر باعث می شود که پروب به عنوان پرایمر استفاده نشود. پروب حدود چند باز بعد از انتهای '3 یکی از پرایمرها (Forward) طراحی می شود. طول این پروب ۲۱ تا ۳۱ نوکلئوتید می باشد. آنزیم پس از نزدیک شدن به پروب با استفاده از خاصیت '5 Exonuclease Activity آن را تجزیه می کند. وقتی پروب تجزیه شد ماده Reporter از تأثیر Quencher خارج شده و از خود فلورسانس ساطع می کند. در هر سیکل با آزاد شدن بیشتر Reporter ماده فلورسانس بیشتری ساطع گردیده و توسط دستگاه ثبت می شود.



آنالیز دیتای بیان ژن Real-time PCR: روش های کمی سازی نسبی بیان ژن امکان محاسبه کمی اختلاف بیان یک ژن در نمونه های مختلف را فراهم می کند. دیتای خروجی بصورت Fold-change گزارش می شود. به عنوان مثال، می توان مقدار تفاوت در بیان یک ژن را در زمان های مختلف در نمونه های مداخله شده و مداخله نشده، با این روش محاسبه کرد. روش C_t مقایسه ای ($\Delta\Delta C_t$) رایج ترین روش آنالیز دیتای Real time PCR است. در این روش، ابتدا با محاسبه ΔC_t، C_t نرمال می شود:

$$\Delta C_t = C_{t/target} - C_{t/reference}$$

که در این رابطه، Target ژن هدف و مورد مطالعه و Reference ژن کنترل داخلی می باشد.

سپس برای محاسبه مقدار تغییرات بیان ژن، ابتدا $\Delta\Delta C_t$ محاسبه می شود:

$$\Delta\Delta C_{t/case} = \Delta C_{t/case} - \Delta C_{t/control}$$

در این رابطه Case، نمونه هدف و مورد مطالعه وControl نمونه کنترل عمومی آزمایش است.

و نهایتا مقدار FC از طریق رابطه زیر محاسبه می گردد:

$$FC=2^{-\Delta\Delta Ct}$$

نتایج چنین آزمایشی، عموما در یک پلات میله ای، به شکل زیر نشان داده می شود.

خدمات ژنوتایپینگ با روش ***High Resolution Melting:*** تکنیک HRM یک روش بسیار دقیق و حساس برای ژنوتایپینگ پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی (SNP)می باشد. به تنوع های تک نوکلئوتیدی در یک لوکوس مشخص در توالی DNA افراد SNP گفته میشود. اگر در یک لوکوس مشخص، بیش از ۱٪ افراد یک جامعه یک نوکلئوتید متفاوت را داشته باشند، آنگاه این تغییر در گروه SNP قرار می گیرد. اگر یک SNP در درون یک ژن قرار داشته باشد، آنگاه گفته می شود آن ژن دارای دو یا چند الل است. با این وجود SNP ها در هر جایگاهی از ژنوم ممکن است قرار بگیرند. SNP ها باعث بروز بیماری نمی شوند اما عموما برخی ازSNP ها ممکن است در برخی بیماری ها مشاهده شوند. بنابراین مشخص کردن ژنوتیپ SNP ها در نمونه های مختلف حائز اهمیت است. روشHRM یک روش بسیار دقیق برای ژنوتایپینگ SNP است. دسترسی به رنگ های برهمکنش کننده (Intercalating)با DNA دو رشته ای و نیز دستگاه Real time PCR امکان انجام آزمایشات ژنوتایپینگ را فراهم کرده است. در این رویکرد، از الگوی ذوب شدگی محصول PCR که حامل SNP مورد مطالعه است، استفاده می شود. HRM یک روش post-PCRاست. در مرحله اول ناحیه ای از DNA که حامل SNP مورد مطالعه است، با استفاده از PCR تکثیر می شود. با تکثیر و ازدیاد قطعات، رنگ مورد استفاده به مولکول های DNA دو رشته ای که در طی سیکل های متناوب PCR تولید شده است، متصل می شود. پس از اتمام PCR، مرحله HRM انجام می شود. در این فرایند، محصول PCR کم کم از ۵۰ درجه سلسیوس تا ۹۵ درجه سلسیوس حرارت داده شده و همزمان با این، الگوی دناتوراسیون آن توسط دستگاه ثبت می شود. با توجه به تفاوت Tm قطعات مختلف، مشاهده الگوهای متفاوت ذوب شدگی نشان دهنده حضور الل های متفاوت در لوکوس مورد مطالعه است. به این ترتیب مشخص می شود که نمونه مورد مطالعه در آن لوکوس حاوی کدامیک از بازهای چهارگانه است. در آزمایش HRM بهتر است که از رنگ های برهمکنش کننده با DNA دو رشته ای که بصورت اشباع با DNA برهمکنش میکنند استفاده شود. LCGreen و EvaGreen از رایج ترین رنگ های مورد استفاده در آنالیز HRM هستند.

کاربرد های ژنوتایپینگ: ژنوتایپینگ SNP و جهش های تک نوکلئوتیدی در نمونه های مختلف، ژنوتایپینگ هاپلوتایپ های لوکوس های مجاور

الکتروفورز افقی و عمودی و رنگ امیزی نیترات نقره: الکتروفورز به عنوان یک جزء جدا نشدنی از تکنیک های بعد از PCR و تکنیک های بررسی پروتئین مطرح بوده که به وسیله آن می توان قطعات حاصل از الکتروفورز را از نظر اندازه، بار و کونفورماسیون جدا نمود. در روش الکتروفورز قطعات DNA و RNA به علت بار منفی گروه فسفات در برابر میدان الکتریکی از قطب منفی به سمت قطب مثبت حرکت می کنند و براساس اندازه از هم تفکیک می شوند. به این ترتیب که هرچه طول قطعه کوتاه تر باشد قادر است مسافت بیشتری را در ژل طی کند و برعکس قطعات بلند تر اصطکاک بیشتری با ژل برقرار کرده و کندتر حرکت می کنند. الکتروفورز افقی با استفاده از پودر اگارز و بافر TBE در آزمایشگاه انجام می شود و برای رنگ آمیزی ژل از مواد اینترکاله همچون اتیدیوم برماید و یا رنگ های safe استفاده شده و در نهایت ژل را در دستگاه ژل داکیومنتیشن بررسی می کنند. زمانی که اندازه قطعاتی که قرار است از هم تفکیک شوند بسیار کم و در حد یک یا دو نوکلئوتید است از ژل اکریل امید به جای اگارز استفاده می شود. SDS-PAGA (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) الکتروفورز با قدرت تفکیک بسیار بالا است که می توان جهت تفکیک باند ها و تعیین ژنوتایپ در روش های مختلف PCR از آن ها استفاده کرد.

ژل اکریل امید شامل پودر اکریل امید و بیس اکریل امید به همراه بافر TBE است که کاتالیزورهای TEMED و آمونیوم پراکسی دی سولفات جهت تسریع واکنش پلیمریزاسیون به آن اضافه می شود. جهت رنگ آمیزی ژل اکریل امید ابتدا نمونه ها را به وسیله الکل و اسید استیک فیکس کرده سپس با محلول نیترات نقره رنگ آمیزی و در نهایت به وسیله محلول ظهور سدیم هیدروکسید باندها قابل رویت خواهند شد.

کاربردهای الکتروفورز در تحقیقات: جداسازی و تفکیک قطعاتDNA، RNA، پلاسمید، محصولاتPCR، تایید کیفیت RNA و DNA استخراج شده

تجهیزات مرتبط با الکتروفورز عمودی و افقی: دستگاه الکتروفورز عمودی و افقی، ژل داکیومنتیشن ، ماکروفر

بیسولفیت کردن ***DNA:*** متیلاسیون DNA یکی از تغییرات اپی ژنتیکی بسیاری کلیدی تاثیر گذار در کنترل بیان ژن و به تبع آن در تکوین جنین، ایجاد شرایط ناهنجاری های متفاوت و بیماری های نظیر سرطان است. متیلاسیون DNA که عموما در محل C5 در سیتوزین در دی نوکلئوتیدهای CpG انجام می شود در بسیاری از فرایندهای زیست شناسی از قبیل بیان ژن، تکوین جنین، تکثیر سلول ها، تمایز و پایداری کروموزوم حائز اهمیت است. متیلاسیون غیرمعمول DNA عموما منجر به از بین رفتن هومئوستازی DNA و ناپایداری ژنومیک می شود. چنین پیامدهایی می تواند در نهایت باعث بروز بیماری هایی نظیر سرطان شود. اهمیت بسیار بالای متیلاسیون DNA می طلبد که روش های حساس و موثری برای اهداف تشخیصی و درمانی طراحی شود. توالی یابی ژنومی بیسولفیت به عنوان یک استاندارد طلایی در آنالیز متیلاسیون DNA به حساب می آید. اساس این روش تفاوت واکنش آمیناسیون سیتوزین و ۵- متیل سیتوزین (5mC) در معرض سدیم بیسولفیت است. در این واکنش، سیتوزین در یک DNA تک رشته ای به یوراسیل تبدیل شده و در واکنش PCR و در توالی یابی به عنوان باز تیمین شناخته می شود، در حالیکه 5mC تحت تاثیر این واکنش قرار نمی گیرد و در واکنش های بعدی همچنان به عنوان سیتوزین سناخته می شود. بدین ترتیب سیتوزین های متیله شده از سیتوزین های غیر متیله شده تمایز داده می شود. پس از انجام واکنش بیسولفیت، وضعیت متیلاسیون یک لوکوس خاص را می توان در یک واکنش PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی متیلاسیون (MSP)ارزیابی کرد. در هنگام انجام واکنش بیسولفیت، باید چند نکته را در نظر داشت. واکنش بیسولفیت، یک واکنش خشن برای DNA است که هم ویژگی های شیمیایی و هم ویژگی های فیزیکی DNA را تحت تاثیر قرار می دهد. DNA اولیه که وارد واکنش می شود، از یک مولکول بزرگ و پایدار دورشته ای، به مجموعه ای از قطعات DNA تک رشته ای که تقریبا تمام سیتوزین های آن ها به یوراسیل تبدیل شده، تغییر می کند. این تغییرات بر شاخصه های کمی و کیفی و تکثیر DNA بیسولفیت شده تاثیر می گذارد. DNA بیسولفیت شده در هنگام اندازه گیری با نانودراپ باید به عنوان RNA اندازه گیری شود.

تجهیزات مرتبط با بیسولفیت کردن DNA: real time PCR، ترمال سایکلر

بررسی متیلاسیون ژنها با روش های ***MSP*** و ***HRM:*** متیلاسیون DNA که عموما در محل C5 در سیتوزین در دی نوکلئوتیدهای CpG انجام می شود در بسیاری از فرایندهای زیست شناسی از قبیل بیان ژن، تکوین جنین، تکثیر سلول ها، تمایز و پایداری کروموزوم حائز اهمیت است. متیلاسیون غیرمعمول DNA عموما منجر به از بین رفتن هومئوستازی DNA و ناپایداری ژنومیک می شود. چنین پیامدهایی می تواند در نهایت باعث بروز بیماری هایی نظیر سرطان شود. اهمیت بسیار بالای متیلاسیون DNA می طلبد که روش های حساس و موثری برای اهداف تشخیصی و درمانی طراحی شود. توالی یابی ژنومی بیسولفیت به عنوان یک استاندارد طلایی در آنالیز متیلاسیون DNA به حساب می آید. اساس این روش تفاوت واکنش آمیناسیون سیتوزین و ۵- متیل سیتوزین (۵mC) در معرض سدیم بیسولفیت است. در این واکنش، سیتوزین در یک DNA تک رشته ای به یوراسیل تبدیل شده و در واکنش PCR و در توالی یابی به عنوان باز تیمین شناخته می شود، در حالیکه mC ۵ تحت تاثیر این واکنش قرار نمی گیرد و در واکنش های بعدی همچنان به عنوان سیتوزین سناخته می شود. بدین ترتیب سیتوزین های متیله شده از سیتوزین های غیر متیله شده تمایز داده می شود. پس از انجام واکنش بیسولفیت، وضعیت متیلاسیون یک لوکوس خاص را می توان در یک واکنش PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی متیلاسیون (MSP)ارزیابی کرد. در هنگام انجام واکنش بیسولفیت، باید چند نکته را در نظر داشت. واکنش بیسولفیت، یک واکنش خشن برای DNA است که هم ویژگی های شیمیایی و هم ویژگی های فیزیکی DNA را تحت تاثیر قرار می دهد. DNA اولیه که وارد واکنش می شود، از یک مولکول بزرگ و پایدار دو رشته ای، به مجموعه ای از قطعات DNA تک رشته ای که تقریبا تمام سیتوزین های آن ها به یوراسیل تبدیل شده، تغییر می کند. این تغییرات بر شاخصه های کمی و کیفی و تکثیر DNA بیسولفیت شده تاثیر می گذارد. DNA بیسولفیت شده در هنگام اندازه گیری با نانودراپ باید به عنوان RNA اندازه گیری شود.

اندازه گیری کانت میتوکندری: مولکول DNA میتوکندریایی انسان (mtDNA) DNA دورشته ای، حلقوی و ۱۶/۶ کیلوباز است. این ژنوم کوچک حلقوی میتوکندریایی tRNA۲۲، ۲ rRNA و ۱۳ پلی پپتید کد می کند. پلی پپتیدهای کد شده در ژنوم میتوکندریایی، زیرواحدهای کمپلکس های I، III، IV و V در زنجیره انتقال الکترون را تشکیل می دهند. پروتئین های درگیر در همانندسازی، رونویسی و ترجمه و ترمیم mtDNA، همگی توسط ژنوم هسته ای کد می شوند. نقص های مولکولی در ژن های مسئول بیوژنز و حفظ انسجام mtDNA می تواند منجر به ناهنجاری هایی شود. در چنین ناهنجاری هایی مقدار mtDNA سلولی بطور چشم گیری کاهش پیدا می کند و از آن ها تحت عنوان سندرم کاهش mtDNA یاد می شود. ناهنجاری های کیفی mtDNA، مانند جهش ها، در انواع مختلف سرطان های انسانی مشاهده شده است. از طرف دیگر، ناهنجاری های کمی mtDNA، نیز در نمونه های توموری بافت های مختلف انسان مشاهده شده است. افزایش تعداد mtDNA در سرطان های پروستات، سر و گردن، و ادنوکارسینومای اندومتریوم و کاهش mtDNA در سرطان های کبد و کلیه مشاهده شده است. به همین دلیل اندازه گیری مقدار mtDNA در شرایط مولکولی و فیزیولوژی مختلف نظیر سرطان می تواند بسیار کاربردی و از این رو حائز اهمیت باشد.

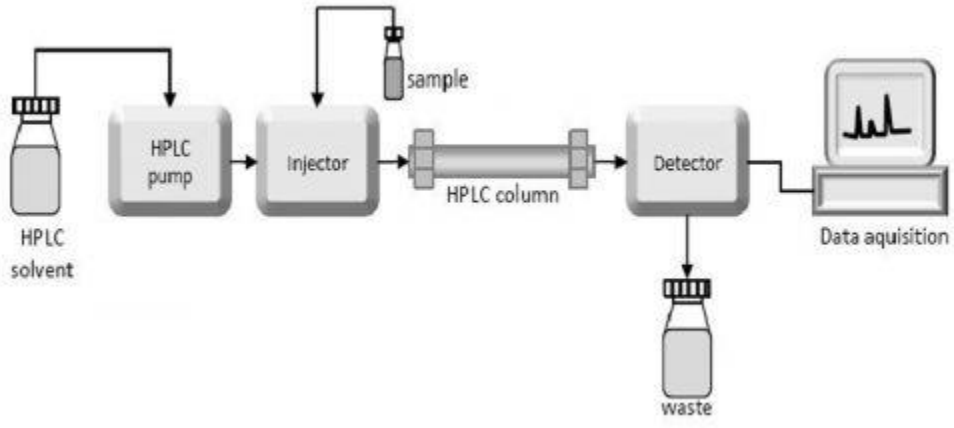
در دو دهه اخیر مطالعات اندازه گیری مقدار دقیق mtDNA در سرطان و نیز در دیگر شرایط ژنتیکی مورد توجه قرار گرفته است. امروزه اندازه گیری کانت میتوکندریایی در نمونه های مختلف با استفاده از تکنولوژی Real time PCR امکان پذیر شده است. در این رویکرد کانت میتوکندریایی با استفاده از یک ژن نرمالایزر در نمونه های مختلف بصورت دقیق مقایسه می شود. استفاده از ژن های میتوکندریایی برای اندازه گیری کانت میتوکندری در یک سلول رویکرد بسیار دقیقی است و با انجام یک PCR می توان بصورت کمی نسبت به اندازه گیری آن اقدام کرد. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری، اکنون با کسب تکنولوژی اندازه گیری کانت mtDNA، خدمات مرتبط با انجام آزمایشات اندازه گیری کانت میتوکندریایی را نیز به لیست خدمات خود افزوده است.

اندازه گیری طول تلومر: تلومرها، ساختارهای DNA - پروتئینی هستند که در دو انتهای کروموزوم ها قرار دارند. این ساختارها، ژنوم را از تخریب نوکلئولیتیک، نوترکیبی ها و ترمیم غیرضروری و نیز فیوژن بین کروموزومی حفظ می کند و به این جهت در حفاظت از اطلاعات ژنوم بسیار کلیدی و مهم هستند. با هر تقسیم سلولی بخشی کوچکی از تلومر بصورت طبیعی از بین می رود. وقتی که طول تلومر به یک مقدار بحرانی برسد، سلول اصطلاحا به پیری می رسد (Senescence) و یا در مسیر آپوپتوز قرار می گیرد. از این رو، تلومر به عنوان یک ساعت بیولوژیک عمل کرده و طول عمر یک سلول و جاندار را مشخص می کند. فاکتور های مختلفی که در سبک های مختلف زندگی وجود دارد، می تواند از طریق وارد کردن آسیب به DNA به عنوان یک کل، یا بصورت اختصاصی به تلومر، منجر به کوتاه شدن طول تلومر شود. در گذشته رایج ترین روش اندازه گیری طول تلومر، روش اندازه قطعه محدود شونده انتهایی (TRF) بوده است. از ایرادات این روش نیازمندی به مقادیر بالای DNA ((۰/۵تا ۵میکروگرم) و نیز زمانبر بودن آن (۳-۵ روز) است. علاوه بر این ها میانگین طول نسبی TRF در افراد در حدود ۵٪ تنوع دارد. این تنوع به دلیل وجود پلی مورفیسم های ساب تلومریک است. امروزه بهترین روش اندازه گیری طول تلومر با کمک تکنولوژی Real-time PCR امکان پذیر شده است. از آنجا که اخیرا اندازه گیری طول تلومر در نمونه های مختلف در بین جامعه محققین مورد توجه قرار گرفته است، اکنون روش های استفاده از Real-time PCR برای اندازه گیری طول تلومر به خوبی بهبود یافته و توسعه پیدا کرده اند. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری، در حال حاضر با دست یابی و بهینه سازی دقیق ترین روش اندازه گیری طول تلومر با استفاده ازReal-time PCR، آماده ارائه خدمات در این زمینه می باشد.

کاربرد های اندازه گیری طول تلومر: اندازه گیری طول تلومر در نمونه های کلینیکی و نیز نمونه های حاصل از آزمایشات In Vitro

آزمایشگاه آنالیز دستگاهی (Analytical Laboratory Equipment):

آنالیز ***HPLC:*** کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance Liquid Chromatography) روشی بسیار کاربردی برای جداسازی، شناسایی و اندازه گیری مقادیر اندک یک نمونه است. آنالیز HPLC که قبلاً به آن کروماتوگرافی مایع با فشار بالا گفته می شد روشی در شیمی تجزیه است که برای شناسایی و تعیین کمیت هر یک از اجزای موجود در یک مخلوط استفاده می شود. آنالیز HPLC به پمپ های انتقال یک حلال مایع تحت فشار حاوی نمونه از طریق ستونی که با ماده جاذب جامد پر شده است، متکی است. هر یک از اجزاء موجود در نمونه با ماده جاذب بطور متفاوتی واکنش داده و باعث ایجاد جریان متفاوتی برای اجزای نمونه می شود که منجر به جدا شدن آنها می شود. در آنالیز HPLC نمونه ای که باید جداسازی و بررسی شود در مقادیر بسیار اندک از طریق یک ستون به جریان فاز متحرک تزریق می شود. ستون های مختلفی وجود دارد که دارای جاذب هایی با اندازه و سطوح مختلفی از ذرات هستند. مخلوط حاوی نمونه با سرعت های متفاوتی از ستون عبور کرده و با ماده جاذب که به عنوان فاز ثابت شناخته می شود، واکنش می دهد. سرعت هر جزء در مخلوط به ۱) ماهیت شیمیایی آن ، ۲) ماهیت ستون و ۳) ترکیب فاز متحرک بستگی دارد. زمانی که یک آنالیت خاص در ستون پدیدار می شود، به عنوان زمان بازداری شناخته می شود. مدت زمان بازداری تحت شرایط خاص اندازه گیری می شود و به عنوان مشخصه شناسایی یک آنالیت معین در نظر گرفته می شود. ذرات جاذب ممکن است از نظر طبیعت آبگریز یا قطبی باشند. فازهای متداول مورد استفاده شامل ماده قابل ترکیب با آب و حلال های آلی مانند استونیتریل و متانول است. از فازهای متحرک بدون آب نیز می توان استفاده کرد. اجزاء محلول فاز متحرک ممکن است حاوی اسیدهایی مانند اسید فرمیک، اسید فسفریک یا تری فلوئوراستیک و یا نمک باشد تا جداسازی اجزای نمونه را فعال کند. ترکیب فاز متحرک در طول کروماتوگرافی می تواند به صورت ثابت یا متغیر حفظ شود. روش ثابت برای جداسازی اجزای یک نمونه که از نظر میل برای فاز ثابت خیلی متفاوت نیستند، مؤثر است. در روش متغیر، ترکیب فاز متحرک از استحکام شستشوی کم تا زیاد متفاوت است. استحکام شستشوی فاز متحرک توسط زمان های بازداری آنالیت منعکس می شود که در آن قدرت شستشوی زیاد باعث شستشوی سریع می شود. ترکیب فاز متحرک بر اساس شدت برهم کنش بین چندین جزء نمونه و فاز ثابت انتخاب می شود.



مزایای آنالیزHPLC:

- کنترل دقیق و خودکار کروماتوگرافی
- مدیریت داده ها، ویژگی های امنیتی و گزارش دهی و اعتبار سنجی
- آنالیز HPLC قدرتمند و سازگار است
- مدیریت تمام زمینه های آنالیز از نمونه گرفته تا ابزار و جداسازی تا نتایج گزارش و بهره وری را افزایش می دهد.
- آنالیز HPLC مقرون به صرفه است.

کاربردهای آنالیز HPLC:

هدف اصلی تکنیک HPLC شناسایی، تعیین کمیت و خالص سازی یک آنالیت یا ترکیب خاص است. تجزیه و تحلیل کمی و هم کیفی با HPLC قابل انجام است و می توان آنرا برای موارد زیر استفاده کرد:

- تصفیه آب
- تشخیص ناخالصی ها در صنایع داروسازی
- تعیین غلظت اولیه عناصر کمیاب
- کروماتوگرافی تبادل لیگاند
- کروماتوگرافی تبادل یونی پروتئین ها
- کروماتوگرافی تبادل آنیون با pH بالا برای کربوهیدرات ها و الیگوساکاریدها

سنتز نانوکامپوزیت های هیدروکسی آپاتیت: هیدروکسیل آپاتیت که به صورت هیدروکسی آپاتیت (HA) نیز نامیده می‌شود، یک فرم معدنی طبیعی آپاتیت کلسیم با فرمول $Ca_5(PO_4)_3(OH)$ است، اما معمولاً $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ نوشته می‌شود تا مشخص گردد که سلول واحد کریستال شامل دو نهاد است. هیدروکسی آلپاتیت، هیدروکسیل انتهایی از گروه ترکیبات آپاتیت است. یون OH می‌تواند توسط فلوراید، کلرید یا کربنات جایگزین شود و فلوراپاتیت یا کلراپاتیت تولید کند و همچنین در آرایش هگزاگونال متبلور می‌شود. پودر هیدروکسی آپاتیت خالص سفید است. اما آپاتیت‌های طبیعی نیز می‌توانند رنگ قهوه ای، زرد یا سبز داشته باشند.

تا ٪۵۰ حجم و ٪۷۰ وزن استخوان انسان، یک فرم اصلاح شده از هیدروکسی آپاتیت است که به عنوان مادهٔ معدنی استخوان معروف است. هیدروکسی آپاتیت با مقادیر کم کربنات کلسیم، ماده معدنی اصلی مینا و عاج دندان است.

هیدروکسی آپاتیت را می‌توان از طریق روش‌های مختلفی از قبیل رسوب شیمیایی خیس، رسوب شیمیایی خنثی یا رسوب الکترولیتی تولید کرد. Yagai و Aoki پیشنهاد کرده‌اند که سوسپانسیون نانو بلور هیدروکسی آپاتیت را می‌توان با یک واکنش شیمیایی خیس تحت معادله زیر تهیه کرد: $Ca(OH)2 + 6\ H3PO4 \rightarrow Ca10(PO4)6(OH)2 + 18\ H2O$ مطالعات متعدد نشان داده‌است که سنتز هیدروکسی آپاتیت را می‌توان از طریق واکنش شیمیایی مرطوب با استفاده از اصوات با فرکانس و قدرت بالا بهبود داد. سنتز این ماده به کمک امواج اولتراسونیک یک روش موفقیت آمیز برای تولید هیدروکسی آپاتیت نانوساختار با استانداردهای سطح بالا است. روش فراصوت امکان تولید هیدروکسی آپاتیت نانو کریستالی و همچنین ذرات اصلاح شده نظیر نانوسفرها با هستهٔ پوشش دار و کامپوزیت‌ها را فراهم می کند. تحولات اخیر موجب ساختن میکروسفرهای سرامیکی ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت با قطر ۱/۵ میکرومتر شده است. هیدروکسی آپاتیت از مهم ترین زیست سرامیک‌های مورد استفاده در پزشکی و دندان پزشکی است که به دلیل خواص زیستی منحصر به فرد و شباهت ساختاری زیاد به بافت سخت استخوان، در سال‌های اخیر مورد توجه واقع شده‌است. به دلیل تشابه ترکیب شیمیایی هیدروکسی آپاتیت با استخوان علاوه بر جنبه‌های زیست فعالی و تأثیرات درمانی هیدروکسی آپاتیت می‌توان به عدم تحلیل رفتن، قابلیت تحریک رشد استخوان (به خصوص داخل تخلخل میان ذرات، حفرات موجود در ماده کاشتنی یا داربست)، ایجاد پیوند مستقیم با استخوان و چسبندگی مطلوب با بافت استخوان اشاره کرد.

طراحی نانو حامل های پلیمری: نانو حامل های پلیمری ذرات نانومتری هستند که به شکل فیزیکی وشیمیایی شبکه ای شده و به خاطر ویژگیهای قابل توجه آنها، ابزارهای مناسبی برای دارو رسانی به شمار میروند. نانو حامل های پلیمری مانند نانوذرات، قابلیت تزریق به خون را دارند. آنها این قابلیت را دارند که به شرایط محیطی مانند قدرت یونی، pH و دما پاسخ دهند. پایداری داروی بارگذاری شده در نانو حامل ها مسئله مهمی در دارو رسانی هدفمند است. مولکولهای دارو به طور تصادفی به بافت سالم نشت میکنند که دراین حالت نانو حامل بدون دارو به بافت هدف میرسد. برای حل این مشکل از نانوحاملهای با اتصالات عرضی یعنی نانو حامل های پلیمری استفاده میشود.

کروماتوگرافی لایه نازک ***(Thin Layer Chromatography):*** با نام متداول و اختصاری TLC از تکنیک های ساده و کاربردی کروماتوگرافی است. در این روش برای جدا کردن اجزاء یک مخلوط از یک فاز ثابت نازک که روی یک بستر بی اثر قرار گرفته است، استفاده می شود. این تکنیک ممکن است در مقیاس آنالیزی به عنوان ابزاری برای نظارت بر پیشرفت یک واکنش سنتزی یا در مقیاس تهیه ای برای خالص سازی مقادیر کم یک ترکیب استفاده شود. TLC ابزاری آنالیزی است که به دلیل سادگی، هزینه کم نسبی، حساسیت بالا و سرعت جداسازی بسیار مورد استفاده قرار گرفته است. هدف TLC به دست آوردن نقاط تعریف شده و جدا از هم است.

اساس کروماتوگرفی لایه نازک:

صفحات (فاز ثابت): صفحات TLC که به عنوان صفحات کروماتوگرافی نیز شناخته می شوند می توانند در آزمایشگاه تهیه شوند، اما بیشتر آنها به صورت تجاری قابل تهیه می باشند. سیلیکاژل و آلومینا از رایج ترین فاز ساکن هستند، اما سایر موارد نیز در دسترس هستند. برای مرحله تشخیص لکه ها بسیاری از صفحات آغشته به ترکیبی هستند که تحت اشعه ماوراء بنفش موج کوتاه (254نانومتر) فلورسانس می شوند. بستر بی اثر صفحات TLC اغلب از شیشه، آلومینیوم یا پلاستیک تشکیل شده است.

حلال (فاز متحرک): انتخاب صحیح حلال یا فاز متحرک شاید مهم ترین بخش TLC باشد و تعیین بهترین حلال ممکن است به یک آزمایش و خطا نیاز داشته باشد. همانند انتخاب صفحه، خواص شیمیایی آنالیت ها نقش مهمی در کارایی جداسازی داشته و باید آنها را نیز در نظر داشت. اگر یک جزء از مخلوط در یک حلال معین نامحلول است، اما یکی دیگر از اجزای آن به خوبی در آن محلول است، غالبا جداسازی های خوبی در کروماتوگرافی لایه نازک به دست می آید.

سرعت حرکت ترکیبات به بالای صفحه به دو چیز بستگی دارد:

- اگر ترکیب در فاز متحرک محلول باشد، بیشتر روی صفحه TLC بالا می رود.

- چقدر ترکیب به فاز ساکن تمایل دارد. اگر ترکیب به فاز ساکن تمایل داشته باشد، به آن می چسبد، که باعث می شود خیلی زیاد روی کروماتوگرام حرکت نکند.

اسیدها، بازها و ترکیبات با قطبیت زیاد معمولا در حلال های خنثی، به جای لکه، نوار ایجاد می کنند. افزودن چند درصد اسید استیک یا فرمیک به حلال می تواند نوار حاصل از اسیدها را اصلاح کند. به طور مشابه برای بازها، اضافه کردن چند درصد تری اتیل آمین می تواند نتایج را بهبود بخشد. برای ترکیبات قطبی نیز افزودن چند درصد متانول می تواند نتایج را بهبود بخشد.

مخلوط های حلالی مفید: برای انتخاب سیستم حلال یک نقطه شروع مطلق وجود ندارد. با این حال، موارد زیر به صورت خلاصه کمک کننده می باشد:

- اگر با مولکول های آلی کاملا غیرقطبی کار می کنید (بدون گروه های عاملی قطبی، فقط حاوی C و(H ، مانند نفتالین، با پنتان خالص یا هگزان شروع کنید.

- اگر جداسازی ترکیبی که دارای یک یا دو گروه عاملی با قطبیت متوسط (اتر، کتون، استر و ...) مد نظر باشد، از مخلوط حلالی ۴: ۱ هگزان/ اتیل استات شروع کنید.

پیپت یا لوله مویینه: لکه ها با استفاده از پیپت های شیشه ای بسیار نازک روی صفحه قرار می گیرند. لوله مویینه باید به اندازه کافی نازک باشد تا لکه ای مرتب داشته باشد، اما آنقدر نازک نباشد که مانع از جذب مقدار کافی آنالیت شود. یک لوله مویینه شیشه ای را روی شعله چراغ بونزن نگه دارید تا زمانی که قابل انعطاف شود و سپس دو انتهای آن را از هم بکشید تا مرکز لوله مویینه باریک تر شود. لوله مویینه را از مرکز باریک شده نصف کنید و از انتهای نازک برای اعمال نقاط استفاده کنید.

محفظه TLC (تانک TLC): توسعه حلال روی صفحه TLC به یک اتاقک یا محفظه (تانک TLC) نیاز دارد. یک ظرف شیشه های با دهان پهن مناسب می باشد، اما ظروف تخصصی تر شیشه ای برای قراردادن صفحات بزرگ در دسترس است. محفظه باید حاوی حلال کافی باشد به نحوی که کف آن را بپوشاند. همچنین از یک قطعه کاغذ صافی یا مواد جاذب دیگر برای کمک به اشباع محیط اتاقک با بخارات حلال استفاده کرد. در آخر این که برای به حداقل رساندن تبخیر باید یک درب یا پوشش روی اتاقک قرار داده شود.

مراحل انجام آزمون TLC:

- صفحه را به اندازه صحیح برش داده و با استفاده از یک مداد (هرگز از خودکار استفاده نکنید)، به آرامی یک خط مستقیم روی صفحه تقریباً ۱ سانتی متر از پایین بکشید. هنگام کشیدن خط روی صفحه TLC از نیروی بیش از حد استفاده نکنید زیرا این کار فاز ساکن را از بین می برد. استفاده از مداد به جای قلم بسیار مهم است زیرا جوهرها معمولا با حلال به بالای صفحه حرکت می کنند.

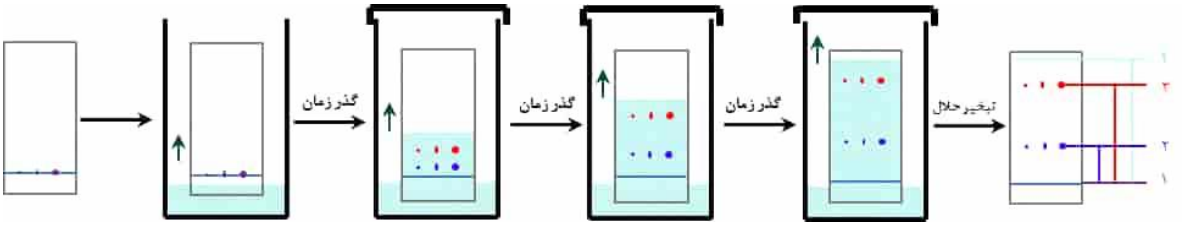
- با استفاده از پیپت های TLC، لکه آنالیت را روی خط قرار دهید. اطمینان حاصل کنید که نمونه کافی در صفحه مشاهده شده است. در صورت نامرئی بودن لکه این کار با قراردادن صفحه زیر اشعه ماوراء بنفش انجام می شود. باید لکه بنفش دیده شود. اگر لکه قابل مشاهده نباشد، باید نمونه بیشتری در صفحه استفاده شود. اگر استانداردی از ترکیب مورد نظر در دسترس باشد، خوب است که با قراردادن استاندارد روی نقطه ای از مخلوط ناشناخته، یک نقطه مشترک تولید کنید. این کار شناسایی ترکیب هدف را تضمین می کند.

- صفحه را داخل محفظه قرار دهید و به دیواره آن تکیه دهید. سطح حلال نباید از خط کشیده شده بالاتر رود. اجازه دهید که حلال با خاصیت مویینگی روی صفحه بالا رود تا حدی که حدود یک سانتی متر از انتها بماند. هرگز اجازه ندهید که حلال تا انتهای صفحه مهاجرت کند.

- صفحه را برداشته و بلافاصله با مداد یک خط در قسمت جلوی حلال بکشید.

- در صورت نامرئی بودن لکه ها، از نور ماوراء بنفش استفاده کنید و اجزای نشان داده شده را با مداد مشخص کنید.

در تصویر مراحل مختلف انجام کروماتوگرافی لایه نازک نشان داده شده است.



مشاهده لکه: اگر ترکیبات مورد جداسازی رنگی باشند، کار تشخیص ساده است، اما در بیشتر موارد لکه ها رنگی از خود ندارند (نامرئی هستند) در این حالت در صورت استفاده از صفحات دارای خاصیت فلورسانس، با تابیدن اشعه ماوراء بنفش موج کوتاه، برخی ترکیبات را می توان مشاهده کرد. فرونشانی باعث ایجاد نقاط تاریک (محل وجود لکه) روی سطح صفحه می شود. این لکه های تیره با یک مداد علامت گذاری شوند. برای ترکیباتی که اشعه ماوراء بنفش فعال نیستند، می توان از برخی ترکیبات شیمیایی برای ایجاد لکه رنگی مربوط به اجزاء جداشده روی صفحه استفاده کرد. این ترکیبات می توانند عمومی باشند، یا مختص یک مولکول خاص یا یک گروه خاص باشند.

فاکتور بازداری: پس از کامل شدن جداسازی، ترکیبات جداگانه به صورت لکه هایی به صورت عمودی از هم جدا می شوند. هر نقطه دارای یک فاکتور بازداری (R_f) است که برابر با مسافت طی شده توسط جزء مورد نظر تقسیم بر مسافت طی شده توسط حلال است.

R_f = مسافت طی شده توسط جزء مورد نظر / مسافت طی شده توسط حلال

مقدار R_f با توجه به منحصر به فرد بودن آن برای هر ترکیب (در شرایط مشخص)، می‌تواند برای شناسایی ترکیبات مورد استفاده قرار گیرد. مقادیر R_f و تکرارپذیری می تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله ضخامت لایه، رطوبت روی صفحه TLC، اشباع بودن یا نبودن تانک TLC، دما، عمق فاز متحرک، ماهیت صفحه TLC ، اندازه نمونه و پارامترهای حلال باشد.

کاربردهای TLC :

- بررسی مخلوط های واکنش در طی سنتز ترکیبات مختلف
- انتخاب حلال مناسب برای کروماتوگرافی ستونی
- بررسی خلوص ترکیبات: از TLC می توان برای بررسی خلوص یک ترکیب درحالی که آنالیز در کنار یک مرجع معتبر انجام می گیرد، استفاده کرد.
- آنالیز بیوشیمیایی TLC: اغلب برای جداسازی، مقایسه و مشخص کردن ترکیبات و متابولیت ها در خون، سرم، مایعات بدن و ادرار استفاده می شود.
- صنایع غذایی و آرایشی: از TLC می‌توان برای جداسازی و شناسایی اجزای گوناگون رنگ های مختلف، محصولات آرایشی، مواد شیرین کننده و نگهدارنده از سایر مواد استفاده کرد. انجام TLC آسان تر است زیرا نیازی به تجهیزات پیشرفته ندارد و همچنین صرفه جویی در زمان است.
- صنایع دارویی: مطالعات پایداری در جایی که باید ثبات داروهای ذخیره شده مورد آزمایش قرار گیرد. همچنین در تشخیص دارو در مایعات بدن، تشخیص باقیمانده دارو در غذا، تشخیص متابولیت های دارو، نظارت بر خلوص دارو مورد استفاده قرار می گیرد.

آزمایشگاه کشت سلول (Cell Culture Laboratory):

کشت رده سلول: آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری با دارا بودن تانک ازت، مجموعه از رده های مختلف سلول های پستانداران را به شکل فریز مهیا کرده و نگهداری می کند. لذا رده های مختلف سلولی موجود در بانک این آزمایشگاه به شکل فریز شده قابل ارائه برای دانشجویان و محققان می باشد. همچنین آزمایشگاه با بهره‌گیری از تجهیزات مجهز، رده های سلولی مختلف را با کانفلوئنسی (Confluency) بالا به شکل کشت داده شده ارائه می کند. در صورت نیاز پس از رسیدن سلول ها به فاز لگاریتمی رشد و کانفلوئنسی بالا، امکان پاساژ (ساب کالچر) نیز در آزمایشگاه امکان پذیر بوده و هر تعداد فلاسک از یک رده سلولی بسته به تقاضا قابل تأمین است. از افتخارات آزمایشگاه کشت سلول، عدم وجود آلودگی از زمان تأسیس تا کنون می باشد؛ که در همین راستا تیم تحقیقاتی و کارشناسان آزمایشگاه در تلاشند سلول هایی با قابلیت رشد بالا (در فاز لگاریتمی رشد) و بدون هیچ آلودگی همراه با محیط کشت اختصاصی را به محققان ارائه کند. همچنین در صورت نیاز افراد می توانند رده های مختلف سلولی خود را به آزمایشگاه آورده و زیر نظر کارشناسان اتاق کشت سلول های جانوری، کشت داده و برای انجام امور پژوهشی سلول ها را آماده کنند. لذا انواع سلول ها هم به شکل فریز شده هم به شکل کشت داده شده در کانفلوئنسی های بالا قابل ارائه برای متقضیان می باشد. هم اکنون آزمایشگاه کشت سلول توانایی ارائه و انواع کشت سلول های سرطانی و بنیادی را داراست. کشت سلول با به وجود آوردن یک سیستم in-vitro موجب گشته تا کاربرد های مختلفی در صنایع مختلف فراهم آورد. به دلیل عدم کشته شدن موجودات زنده در تکنیک کشت سلول، تست های اولیه مربوط به هر تحقیقی در این زمینه انجام شده و پس از حصول نتایج مطلوب تست های ثانویه انجام می پذیرد. لذا تکنیک کشت سلول امروزه در زمینه های پزشکی، داروسازی، زیست شناسی سلولی مولکولی و غیره به کار گرفته می شود.

تکثیر و نگهداری طولانی مدت رده های سلول حیوانی: سلول های جانوری و مخصوصاً سلول های پستانداران شرایط ویژه‌ای برای رشد کردن نیاز دارند. طبیعتاً نگهداری طولانی مدت سلول ها داخل انکوباتور محدودیت هایی را داشته و قابل انجام نیست. باید توجه داشت که نگهداری سلول ها داخل انکوباتور نیاز به بررسی روزانه داشته و علاوه بر هزینه آن، در صورت فراموشی فقط یکبار تعویض محیط آن موجب از بین رفتن سلول ها می شود. از طرفی با نگهداری طولانی مدت سلول ها روزانه تقسیمات متوالی در آن ها صورت پذیرفته و هر چند وقت یکبار برای نرسیدن به کانفلوئنسی ۱۰۰ و جلوگیری از مرگ سلولی، هر چند وقت یکبار باید مقداری از سلول ها دور ریخته شوند تا فضای کافی رشد برای آن ها تأمین شود. همچنین تقسیم های متوالی و پی در پی با جهش همراه بوده و با گذشت زمان جهش های مختلف موجب ایجاد مسیر های تکوینی گنگ در سلول ها شده و آن ها را به سمت سلول هایی ناشناس سوق می دهد. لذا پژوهشگران به جهت جلوگیری از بوجود آمدن چنین شرایط و اتفاقاتی، پس از اتمام کار تحقیقاتی، سلول های خود را به شکل فریز در آورده و آن ها را به شکل طولانی مدت نگهداری می کنند. جهت فریز کردن، سلول ها باید به تعداد مشخصی رسیده و اصطلاحاً کانفلوئنسی مناسب (بالای ۸۰ درصد) را کسب کنند. لذا آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری رده های سلولی مختلف بسته به تقاضای دانشجویان و پژوهشگران را کشت داده و پس از رسیدن به کانفلوئنسی مناسب، از آن فریز می گیرند. بسته به نوع سلول و تعداد آن محیط فریز (Freezing Medium) آماده شده و همراه با سلول ها در کرایوویال لود می شوند. میزان DMSO ریخته شده در محیط فریز می تواند از ۵ درصد الی ۱۰ درصد متغیر باشد. در صورت حساس بودن سلول ها درصد DMSO کمتر در نظر گرفته می شود. سپس سریعاً سلول ها به فریزر منفی ۸۰ منتقل شده و پس از گذشت یک شبانه روز به تانک ازت انتقال داده شده و به شکل طولانی مدت درون ازت مایع (منفی ۱۹۶ درجه سانتی گراد) نگهداری می شوند.

بررسی زنده مانی ***(Viability)*** و شمارش سلولی: شمارش سلول ها می تواند به واسطه ابزار مختلف مانند دستگاه کلنی کانت، لام نئوبار به شکل دستی و ... انجام پذیرد. طبیعتاً در کشت سلول هر ابزاری که بتواند زمان انجام یک تکنیک را کاهش داده و در عین حال خطا را به حداقل برساند، انتخاب می شود. ممکن است روش های مختلفی برای شمارش سلول های پستانداران وجود داشته باشد اما روش شمارش سلولی به واسطه رنگ آمیزی بسیار سریع و کم هزینه می باشد. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری جهت رنگ شمارش سلول ها، ابتدا رسوب سلولی را در میزان مشخصی از محیط کشت به شکل سوسپانس در آورده سپس میزان ۱۰ میکرولیتر از آن را پس از پیپتاژ کردن به یک ویال منتقل می کند. در ادامه سلول ها توسط رنگ تریپان بلو رنگ آمیزی شده و به لام نئوبار منتقل می شوند.

رنگ تریپان بلو با مشخص کردن سلول ها زیر لام، قدرت تفکیک بین سلول های زنده و مرده را بوجود می آورد؛ به طوری که در اطراف سلول های زنده هاله ای آبی رنگ تشکیل داده و به داخل آن ها نفوذ نمی کند. ولی در عوض اگر سلولی مرده باشد به درون آن نفوذ کرده و تماماً آن را رنگ می کند. لذا بدین وسیله فقط سلول های زنده شمرده می شوند. برای کاهش خطا در نتایج تست، آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری خانه‌های (Zone) مربوط بهWBC را ست آپ کرده و ۴ خانه شمرده شده و از مجموع آن ها میانگین گرفته می شود. لذا این امر موجب کاهش خطا شده و اطلاعاتی با درستی بالای ۹۵ درصد در بررسی Viability و شمارش سلول های جانوری گزارش می گردد. پس از محاسبه میانگین، با استفاده از قوانین تناسب تعداد سلول ها در حجم محیط کشتی که سلول ها در آن معلق هستند، محاسبه

می شود. شمارش سلولی و بررسی درصد زنده مانی سلول ها (Viability) می تواند اطمینان دهد که سلول ها در وضعیت خوبی بوده و از نظر تعداد آماده انجام تست های مختلف هستند. باید توجه داشت که شمارش سلولی و بررسی نرخ زنده مانی سلول ها یک تست ضمنی است. به عنوان مثال برای بررسی سمیت یک ماده در دوز های مختلف نمی توان از این تست بهره گرفت. چرا که بررسی Viability سلول های جانوری و شمارش سلولی با رنگ آمیزی تریپان بلو زمانبر بوده و نمی توان در زمان کم برای تعداد نمونه های بالا آن را به انجام رساند. عموماً این تست برای اطلاع از تعداد سلول ها در یک حجم مشخص به کار رفته و به عنوان مثال برای لود کردن تعداد مشخصی از سلول ها در چاهک های پلیت های چندخانه کشت سلول به جهت انجام تست MTT مورد استفاده قرار می گیرد.

تکنیک الایزا (***ELISA***): روش سنجش ایمنی متصل به آنزیم Enzyme-linked immunosorbent assay پر کاربرد ترین تکنیک ایمونواسی است و همانطور که از نام آن مشخص است آنتی بادی شناساگر به آنزیم متصل شده است. از این تکنیک به طور گسترده در آزمایشگاه های تحقیقاتی و تشخیص طبی استفاده می شود. با تعریف دقیق، شامل هرگونه ایمنی سنجی فاز جامد کوت شده با آنتی بادی و یا آنتی ژن و حضور یک آنزیم درگیر در فرآیند تولید سیگنال می باشد. از آنجا که یک مولکول آنزیم میتواند تعداد زیادی مولکول سوبسترا را تبدیل کند تولید سیگنال بسیار شدت می یابد. انکوباتورها، دستگاه های شستشو و اسپکتروفتومترها در مقیاس آزمایشگاهی یک بستر انعطاف پذیر و ارزان با حساسیت و ویژگی بالا برای شناسایی طیف وسیعی از آنالیت ها ارائه می دهند. توانایی تکنیک الایزا برای ارائه تستهای ارزان و قابل اعتماد برای غربالگری تعداد زیادی نمونه، آن را به یک روش مطلوب برای محققانی که در بودجه های محدود کار میکنند تبدیل کرده است. از تکنیک الایزا برای تشخیص و تعیین مقدار آنتی ژن ها، آنتی بادی ها، هورمون ها و سایر مولکولها استفاده می شود. علاوه بر برنامه های کاربردی در تشخیص بالینی، از آن به عنوان روش سنجش اختصاصی برای بسیاری از اهداف تحقیقاتی، مانند توصیف پروتئین ها و داروهای جدید استفاده می شود. معمولا الایزا در پلیت های ۹۶ خانه از جنس پلی استرین انجام می شود. مراحل کار به طور خلاصه به این صورت است که در کف پلیت آنتی ژن یا آنتی بادی مکمل آنالیت مورد نظر کوت شده است. سپس نمونه به هر چاهک اضافه می شود. بعد از اضافه کردن نمونه شستشو انجام می شود تا آنتی ژن یا آنتی بادی هایی که متصل نشده اند از محیط خارج شوند. سپس آنتی بادی نشاندارشده با آنزیم اضافه می شود و مجددا شستشو انجام می شود. آخرین مرحله اضافه کردن سوبسترای آنزیم و دیدن رنگ تولید شده است. پلیت با دستگاه الایزا ریدر خوانده می شود. شدت رنگ تولید شده نشانگر غلظت آنالیت مورد نظر است.

تیمار سلول ها با انواع داروها و بررسی سمیت مواد ***(MTT,XTT,LDH Assays):*** قبل از ارائه یک ترکیب سنتزی یا طبیعی به عنوان دارو، باید تست های مختلفی جهت سنجش تأثیرات مختلف آن بر روی سلول های هدف انجام پذیرد. یکی از تست های اولیه برای بررسی اثر کشندگی یک ترکیب ناشناخته، بررسی سمیت آن در سیستم in-vitro می باشد. چرا که اگرچه یک ترکیب از نظر مولکولی شناخته شده و تأثیرات آن قابل حدس باشد، بررسی تأثیر واقعی آن در سیستم زنده همچنان قابل بحث است. تکنیک های سنجش سمیت مواد در راستای بهینه سازی ابتدایی دارو ها ارائه می گردد. برخی اوقات یک ترکیب به دلیل خاصیت کشندگی آن به عنوان داروی بیماری هایی چون سرطان ارائه می گردد تا بتواند در از بین بردن سلول های سرطانی نقش ایفا کند و همچنین برخی اوقات ترکیبات باید هیچ اثر سمیتی روی سلول های جانوری نداشته باشند تا بتوانند به عنوان یک دارو معرفی شوند.

هر دو دسته این ترکیبات معرفی شده، در ابتدای مسیر با تست های بررسی سمیت مورد سنجش قرار می گیرند. در تکنیک های مختلف سنجش سمیت مواد، اساس کار یکسان بوده و در نهایت معرف های مختلف که نشانگر سلول های زنده هستند مورد استفاده قرار می گیرند. به عنوان مثال در تکنیکMTT، از پودر MTT به عنوان نشانگر سلول های زنده استفاده می شود. انجام تست MTT بدین شکل است که پس از تیمار سلول ها، محلول MTT به سلول ها اضافه شده و به درون میتوکندری سلول های زنده نفوذ می کند. زمانی که MTT به درون میتوکندری وارد شود، در آن جا بلور های فورمازان تشکیل می دهد. هرچقدر میزان بلور های فورمازان تشکیل شده بیشتر باشد به همان میزان نشان دهنده سلول های زنده بیشتر است. مسئله قابل توجه که موجب گشته ترکیب MTT یک فاکتور مناسب برای بررسی زنده مانی (Viability) در سلول های یوکاریوتی شود، کروموفور بودن آن و قابلیت تمیز دادن بین سلول های زنده و مرده می باشد. این ترکیب در حالت عادی زرد رنگ بوده و زمانی که در مجاورت میتوکندری قرار می گیرد، توسط دهیدروژناز های فعال میتوکندریایی با دریافت پروتون کاهش یافته و بلور های بنفش رنگ تشکیل می دهد. همچنین ترکیب MTT قبل از کاهش در محدوده ۳۰۰ الی ۴۰۰ نانومتر جذب داشته و پس از کاهش در محدوده ۵۰۰ الی ۶۰۰ نانومتر جذب خواهد داشت و بیشترین جذب آن در محدوده طول موجی۵۷۰ نانومتر می باشد. لذا مجموعاً با همین تفاسیر، ترکیباتی که خاصیت کروموفوروری داشته و در محدوده خاص طول موج جذب نوری داشته باشند، در صورتی که علاوه بر آن قابلیت تمیز بین سلول های زنده و مرده داشته باشند، می توانند موارد مناسبی برای بررسی زنده مانی سلول ها باشند و در تست بررسی سمیت مواد به کار آیند. انتخاب فاکتور هایی دیگر علاوه بر فاکتور MTT برای بررسی سمیت مواد، بدین جهت است که برخی اوقات ترکیب MTT با ماده مؤثره‌ای که در جهت بررسی سمیت آزمایش می شود تداخل داشته و در نتیجه تست MTT نتایج کاذب ارائه دهد. ترکیباتی مانند LDH،

XTTو رزازورین (Resazurin) جایگزین های مناسبی برای MTT می باشند و فقط باید دقت داشت هر یک شرایط خاص خود را داشته و جذب نوری متفاوتی خواهند داشت. تفسیر نتایج تست MTT یکی از مهمترین بخش های تست های بررسی سمیت مواد می باشد. باید توجه داشت که نتایج تست MTT به خوبی ارزیابی شده و برای هریک از دارو ها نمودار نرخ زنده مانی سلولی (Viability) در دوز های مختلف ترسیم شده و نسبت به نمودار کنترل مقایسه شود. روش آنالیز نتایج تست های سنجش زنده مانی مانند MTT Assay بدین شکل است که پس از خوانش پلیت با دستگاه الایزا ریدر، از جذب خانه های تکرار شده برای هر دوز میانگین گرفته می شود.

باید توجه داشت که میزان جذب هر چاهک از میزان جذب چاهک بلانک کم شود (عموماً این کار توسط خود دستگاه الایزا ریدر انجام می شود). در نهایت میانگین جذب هر دوز به میزان جذب کنترل تقسیم شده و در ۱۰۰ ضرب می شود. اعداد بدست آمده نشان دهنده درصد نرخ زنده مانی یا همان Viability می باشد. سپس نرخ زنده مانی هر یک از غلظت ها به شکل نمودار ترسیم شده و بر طبق نمودار تفسیر و آنالیز نتایج انجام می پذیرد.

ترنسفکشن سلولها با ***DNA*** و انواع ***RNA:*** ترنسفکشن (Transfection) فرآیندی است که در آن یک قطعه نوکلئیک اسید به درون یک سلول یوکاریوتی وارد شده و یک سلول دستکاری شده ژنتیکی تولید می شود. این رویکرد یک ابزار قدرتمند برای مطالعه عملکرد ژن ها و محصولات آن ژن در سلول است. از نظر عملکردی، فرایند ترنسفکشن میتواند پایدار و یا گذرا باشد که بر اساس اهداف یک پروژه رویکرد مناسب را می توان انتخاب کرد. همچنین روش های متفاوتی برای ترنسفکت کردن سلول های جانوری وجود دارد، با این وجود جدیدترین و پربازده ترین روش ترنسفکشن، استفاده از لیپوفکتامین (Lipofectamine) است. انتخاب روش مناسب با توجه به نوع سلول و نیز اهداف آزمایش انجام می شود. برای ترنسفکشن یک نوکلئیک اسید به درون یک سلول، نخستین مانع بار منفی نوکلئیک اسید و غشای سلول ها است. لیپوفکتامین ۲۰۰۰ یک لیپوزوم کاتیونی است که با نوکلئیک اسید، کمپلکس تشکیل می دهد و به این ترتیب با از بین بردن نیروی دافعه الکتریکی بین نوکلئیک اسید و غشا، امکان نزدیک شدن نوکلئیک اسید به غشا را فراهم می کند و به این ترتیب سلول می تواند نوکلئیک اسید خارجی را دریافت کند. از مهمترین عوامل موثر بر بازدهی فرایند ترنسفکشن با لیپوفکتامین ۲۰۰۰، دانسیته سلولی، مقدار DNA و نسبت DNA به لیپوفکتامین ۲۰۰۰، رقت لیپوفکتامین ۲۰۰۰ پیش از اضافه شدن DNA ، تشکیل کمپلکس DNA : لیپوفکتامین ۲۰۰۰، زمان ارزیابی بیان ژن خارجی و شرایط کشت سلول می باشد. برای اینکه ژن خارجی در سلول بیان شود، مولکول DNA باید به هسته برسد و در دسترس ماشین رونویسی قرار بگیرد. در سلول های در حال تقسیم، به دام افتادگی DNA خارجی در پوشش هسته همزمان با تشکیل هسته در سلول به راحتی اتفاق می افتد. از بهترین مزیت های لیپوفکتامین نسبت به سایر روش های مورد استفاده برای ترنسفکشن، این است که این لیپید می تواند DNA را حتی در سلول های پس- میتوزی نیز وارد هسته کند.

کاربرد های ترنسفکشن: مطالعات ژنومیکس و ترنسکریپتومیکس و مطالعات Gene Discovery

انجام تست لوسیفراز ***(Luciferase assay)***: در یک آزمایش انتقال ژن به درون سلول، لازم است که قدرت پروموتر مورد استفاده برای بیان ژن مورد ارزیابی کمی قرار بگیرد. از آنجایی که بازدهی پایین فرایند انتقال ژن یک چالش رایج در چنین آزمایشاتی است، پروموتورهای عموما بصورت فیوز شده با یک ژن گزارشگر مورد استفاده قرار می گیرند. میزان فعالیت پروتئین گزارشگر و یا فلورسانس آن، با میزان بیان mRNA ژن خارجی متناسب خواهد بود. یکی از رایج ترین گزارشگرهای مورد استفاده در آزمایشات انتقال ژن لوسیفراز کرم شب تاب Photinus pyralis است. این ژن یک آنزیم با وزن ۶۱ کیلو دالتون کد می کند که در حضورATP ، اکسیژن و یون منیزیم دو ظرفیتی، مولکول لوسیفرین را اکسید می کند. با اکسید شدن لوسیفرین یک نور فلورسانت تولید می شود که می توان شدت آن را اندازه گیری کرد. چنانچه در محیط این واکنش کوآنزیم A نیز وجود داشته باشد، تولید نور تداوم بیشتری خواهد داشت. این فرایند ارزیابی قدرت پروموتر در آزمایشات انتقال ژن، تست لوسیفراز (Luciferase assay) نامیده می شود. برای انجام تست لوسیفراز می توان از کیت های تجاری مختلف به خصوص کیت های کمپانی Promegaاستفاده کرد، با این وجود می توان محلول های مورد استفاده در آزمایش را بصورت دستی در آزمایشگاه تهیه کرد. ضروری است که در هر صورت آزمایش به خوبی بهینه سازی شود تا بتوان ارزیابی دقیقی از فرایند انتقال ژن حاصل کرد.

کاربرد های تست لوسیفراز: مطالعات ژنومیکس و ترنسکریپتومیکس، مطالعات Gene Discovery

بررسی میزان آپوپتوز و نکروز به روش رنگ آمیزی ***AO/PI :*** فرایند آپوپتوز یا همان مرگ برنامه ریزی شده سلولی، با شاخصه های مورفولوژیک و مکانیزم های بیوشیمیایی وابسته به انرژی شناخته می شود. آپوپتوز از رخدادهای حیاتی در بسیاری از فرآیند های سلولی، از قبیل تکوین و عملکرد سیستم ایمنی، آتروفی وابسته به هورمون،

تکوین جنین، مرگ سلولی تحت القای مواد شیمیایی، بیماری های عصبی، آسیب های ایسکمیک، ناهنجاری های خود ایمنی و سرطان است. از آنجایی که مرگ یا زندگی سلول را می توان به راحتی دستکاری کرد، آپوپتوز پتانسیل درمانی مناسب را فراهم می کند.

از این رو مطالعه ی ماشین چرخه ی سلولی و مسیر های انتقال پیام که توقف سیکل سلولی و آپوپتوز را کنترل میکنند برای شناخت هرچه بیشتر آپوپتوز ادامه دارد. زمانی که سلولی دچار نکروز می شود نشان دهنده آسیب مستقیم سلولی می باشد که این مسیر یک مسیر نامناسب برای درمان بیماری ها و از بین بردن بافت های سرطانی می باشد. بهترین راه القاء مسیر آپوپتوتیک می باشد. روش های مختلفی برای سنجش میزان آپوپتوز و نکروز در سلول ها وجود دارد که یکی از روش های آن بررسی با نشر فلوئورسانت می باشد. در این روش از رنگ آکریدین نارنجی (AO) و پروپیدیوم یدید (PI) استفاده می شود. رنگ آکریدین اورنج به DNA متصل شده و در ۵۰۲ نانومتر بیشترین تهیج و بیشترین نشر را در ۵۲۵ نانومتر از خود نشان می دهد. نشر آکریدین اورنج در فیلتر سبز صورت پذیرفته و سلول ها رنگ سبز از خود نشان می دهند. باید توجه داشت که آکریدین اورنج به DNA سلول های زنده و آپوپتوتیک متصل می شود. لذا نشر رنگ سبز نشان دهنده زنده بودن سلول و یا آپوپتوز می باشد. رنگ پروپیدیوم یدید نیز به DNA و RNA متصل شده و این اتصال ارتباطی به توالی آن ندارد. این رنگ نیز به DNA سلول های نکروز یافته و یا آپوپتوتیک متصل شده و هیچ اینترکشنی با سلول های زنده ندارد. رنگ پروپیدیوم یدید در فیلتر آبی رنگ قرمز می گیرد و با ترکیب عکس های گرفته شده در فیلتر های آبی و سبز، می توان سلول ها را روی هم انداخت و **آنالیز نتایج تست بررسی میزان آپوپتوز به شکل زیر می باشد:**

سلول های زنده = رنگ سبز

سلول های نکروتیک = رنگ قرمز

سلول های آپوپتوتیک = رنگ نارنجی

باید توجه داشت که رنگ آمیزی AO/PI فقط یکی از روش های رنگ آمیزی فلوئورسانت می باشد. رنگ های فلوئورسانت دیگری برای رنگ آمیزی سلول ها به جهت بررسی های مختلف انجام می شود.

تست های تهاجم و مهاجرت سلولی: سلول های نرمال بدن جانوران در صورت آسیب، واجد توانایی ترمیم با توانایی مهاجرت سلولی می باشند. داروهایی که بتوانند اثر حرکتی سلول ها را تحریک کرده و آن ها را به سمت مهاجرت سریع تر پیش ببرند، می توانند در ترمیم آسیب های فیزیکی مؤثر باشند. این اثر می تواند با تغییر در فاکتور های بیانی که در تقسیم سریع تر و در نتیجه پرکردن سریع فضای خالی نقش دارند، تأثیر گذار باشد.

لذا بررسی میزان مهاجرت و تهاجم سلول ها هم از نظر مولکولی (تنظیم تمامی رفتار های سلولی به واسطه عنصر ژنتیک) و هم از نظر مورفولوژی قابل بررسی است. مسئله دیگر افزایش قابلیت تهاجم سلولی در بافت های سرطانی می باشد که منجر به متاستاز می گردد. لذا دارو هایی که بتوانند بر خلاف دارو های مؤثر در ترمیم زخم، قابلیت تهاجمی سلول ها را کاهش دهند، ارزشمند بوده و می توانند به عنوان داروی مقابله با متاستاز شناخته شوند. مهاجرت سلول های سرطانی نیز از جهات مولکولی و مورفولوژی قابل بررسی می باشند. طبیعتاً بررسی مورفولوژیکی از نظر اقتصادی به صرفه تر بوده و پس از تأیید مورفولوژیکی وجود تأثیر مثبت یا منفی یک ترکیب در مهاجرت و تهاجم سلولی، تست های مولکولی انجام می پذیرد. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری در همین راستا خدمات بررسی تهاجم و مهاجرت سلولی را هم از نظر مورفولوژیکی که تحت عنوان Wound Healing یا Scratch شناخته می شود و هم از نظر مولکولی که می تواند با تکنیک real-time PCR انجام پذیرد، ارائه می دهد. تست ترمیم زخم (Wound) (Healing یا خراش (Scratch) با دو متد مختلف انجام می پذیرد. یک روش ساده تر و کم هزینه تر تست خراش یا تست Scratch می باشد. در این تست سلول ها در پلیت های چند خانه رشد کرده و پس از رسیدن به کانفلوئنسی و غلظت مناسب توسط خراش دهنده یا Scratcher خراش داده می شوند. در این تست بخشی از سلول ها در یک خط مشخص کنده شده و در ساعت های مختلف از آن بخش عکس گرفته می شود. هرچقدر توانایی سلول ها در مهاجرت و تهاجم بالاتر باشد آن ناحیه خراش داده شده را هر چه سریع تر پر می کنند. در نهایت عکس های گرفته شده در ساعات مختلف مقایسه می شوند. روش دیگر که نسبتاً دقیق تر است استفاده از پلیت های مخصوص ترمیم زخم (تست Wound Healing) که نشان دهنده دقیق سلول های مهاجرت کننده است، می باشد. در پلیت های مخصوص تست ترمیم زخم، داخل هر چاهک یک جدا کننده سلولی با سایز مشخص قرار می گیرد و در آن ناحیه اجازه رشد سلول ها را نمی دهد. مزیت استفاده از پلیت های مخصوص در این است که سایز خراش ایجاد شده در هر یک به یک اندازه بوده و آزمایش را استاندارد سازی می کند.

کشت سلول اولیه ***(Primary Cell Culture)***: کشت اولیه، نوعی از سیستم کشت سلولی است که در آن سلولها به طور مستقیم از بافت بدست می آیند. کشت اولیه با بیوپسی (Biopsy) از بافت یا اندام از طریق قطع عضو به اندازه ۱ تا ۳ سانتیمتر شروع می شود. در سازماندهی بافت ها، سلول ها دارای اتصالات غشای پایه و پیوند های سلول- سلول هستند که ابتدا باید این پیوند ها را از بین برد. برای انجام این فرآیند، از روش های جداسازی سلولها مانند روشهای هضم آنزیمی یا شیمیایی که در آن از آنزیمهای مختلف پروتئولیتیک مانند تریپسین یا کلاژناز و روشهای جداسازی مکانیکی مانند تقسیم بافت با چاقوهای جراحی استفاده می شود. پس از شست و شوی بافت ها به طور کامل و از بین برده پیوند ها در آن ها، سوسپانسیون بدست آمده به وسیله فرآیند سانتریفیوژ خالص شده و به ظروف کشت منتقل می شود. سپس، بسیاری از سلولها رفته رفته از بافت جدا شده و به صورت مستقل به کفه فلاسک می چسبند. پس از آنکه سلولهای سالم با مورفواوژی مناسب از بافت ها خارج شدند، فرآیند کشت اولیه تکمیل می شود. با این حال، به جز سلول هایی که در ابتدا خواسته می شود در کشت های اولیه بدست آیند، مشاهده می شود که انواع مختلف سلول به ویژه فیبروبلاست ها نیز به فلاسک کشت انتقال می یابند. برای از بین بردن سلول ها متفرقه می توان از محیط های کشت محدود کننده مختلف استفاده کرد و همچنین برای اثبات بنیادی بودن سلول های استخراج شده از بررسی گیرنده های مثبت و منفی سطح سلولی استفاده می کنیم.

نامیرا کردن سلولها: یک رده سلولی نامیرا (Immortalized cell line) جمعیتی از سلول‌های یک موجود چند سلولی است که در حالت طبیعی به طور نامحدود تکثیر نمی‌شوند ولی در نتیجه جهش، پیری طبیعی سلولی از بین رفته و می‌تواند به تقسیمات سلولی خود ادامه دهد، بنابراین سلول‌ها می‌توانند به مدت طولانی در شرایط آزمایشگاهی رشد کنند. جهش‌های لازم برای نامیرا شدن می‌توانند به‌طور طبیعی اتفاق بیفتند یا عمداً برای اهداف آزمایشگاهی القاء شوند. رده‌های سلولی نامیرا یکی از ابزارهای بسیار مهم برای تحقیقات در بیوشیمی و زیست‌شناسی سلولی موجودات چند سلولی هستند. رده‌های سلولی نامیرا کاربردهای زیادی هم در زیست فناوری دارند. یک رده سلولی نامیرا نباید با سلول‌های بنیادی، که آن‌ها هم می‌توانند به‌طور نامحدود تقسیم شوند ولی بخشی از تکوین طبیعی یک موجود زنده چند سلولی را تشکیل می‌دهند، اشتباه گرفته شود. سلول هایی که از بافت استخراج شده و کشت اولیه داده می شوند، پس از تعداد معدودی تقسیم، وارد فازی تحت عنوان پیری (Replicative Senescence) می شوند. ورود به این فاز با تغییرات مورفولوژی، بیان ژن و متابولیک همراه است. ورود چنین سلول هایی به فاز پیری، مانع انجام آزمایش های بیشتر بر روی سلول های مورد مطالعه می شود. در چنین شرایطی محقق ممکن است مجبور باشد بارها برای تهیه کشت اولیه از بافت، که فرایندی سخت و حساس و در نتیجه بسیار تکرار ناپذیر است، اقدام کند. به همین دلیل ضروری است که برای جلوگیری از ایجاد تنوع و خطا در چنین آزمایش هایی، سلول های به دست آمده در کشت اولیه برای مدت بیشتری قادر به تکثیر و تقسیم باشند. در چنین شرایطی سلول ها اصطلاحا نامیرا (Immortalized) می شوند. یک سلول نامیرای ایده آل، سلولی است که نه تنها می تواند به دفعات بسیار بیشتری تقسیم و تکثیر شود، که ویژگی های ژنوتیپی و فنوتیپی آن نیز مانند سلول والدی اولیه باشد.

روش های متفاوتی برای نامیراسازی سلول های پستانداران در شرایط کشت وجود دارد. استفاده از ژن های ویروسی و نیز بکارگیری پروتئین رونوشت بردار معکوس تلومراز، از روش های رایج نامیراسازی سلول های پستانداران است. نامیراسازی موثر لنفوسیت های B انسانی با استفاده از ویروس اپشتاین بار(EBV) با هدف القای رشد طولانی مدت این سلول ها در محیط کشتانجام می شود. EBV تنها ویروس شناخته شده ای است که می تواند لنفوسیت های B را نامیرا کند. لنفوسویت های T از نامیراسازی لنفوسیت های B توسط EBV جلوگیری می کند. به همین دلیل برای بازدهی بیشتر فرایند نامیراسازی لنفوسیت های B لازم است که سلول های T از محیط کشت خارج شده یا غیرفعال شوند.

امکانات و تجهیزات آزمایشگاه جامع تحقیقات:

تجهیزات کشت میکروبی: آزمایشگاه های میکروبیولوژی، عموماً یکسری ابزار و وسایل عمومی و مشترک دارند که تقریبا در انواع کشت باکتری مورد استفاده قرار می گیرد. از این ابزار می توان به لوپ، آنس، سواب، چراغ الکلی، چراغ گازی و...

لوپ یا فیلدوپلاتین، آنس و سواب: همگی از ابزار انتقال میکروب ها از یک محیط کشت به محیط کشت های دیگر می باشد. لوپ یا فیلدوپلاتین و همچنین آنس هر دو از جنس پلاتین هستند و هر سری قبل از مصرف می توان آن ها را توسط شعله استریل کرد. سر لوپ به شکل دایره بوده و آنس نوک تیز است. سواب نیز سری از جنس پنبه داشته و می تواند حجم مشخصی از میکروب های شناور در یک محیط کشت مایع را به خود جذب کند. عموما سواب ها یکبار مصرف هستند ولی در انواع قابل اتوکلاو نیز ساخته می شود.

چراغ های الکلی و گازی: جهت استریلیزاسیون و فراهم کردن یک محیط عاری از میکروب مورد استفاده قرار می گیرند. چراغ در اطراف شعله خود محیطی را فراهم می کند که هیچ میکروبی در آن نمی تواند وجود داشته باشد و کشت میکروب ها در اطراف شعله انجام می شود تا محیط کشت آلوده نشود. از شعله چراغ ها برای استریل کردن لوپ و آنس نیز استفاده می شود.

هودشیمیایی (***Fume Hood***): با توجه به اهمیت کار در محیط های عاری از آلودگی در آزمایشگاه های زیست شناسی، سیستمی تحت عنوان هود شیمیایی با درجه های مختلف ساخته شده است. همانطور که هود های آشپزخانه وظیفه مکش دارند، هود های آزمایشگاهی نیز از ساده ترین مدل تا پیشرفته ترین آن وظیفه مکش را دارند. هود های آزمایشگاهی در انواع مدل بسته به نیاز ساخته و عرضه می شوند. آن چه که مشخص می کند چه نوع هود شیمیایی برای یک آزمایشگاه مناسب است، کاربری آن آزمایشگاه می باشد. این که در یک آزمایشگاه فقط از مواد شیمیایی استفاده می شود و یا نه اگر موارد پاتوژنی هم وارد آزمایشگاه می شوند، مشخص کننده نوع هود شیمیایی خواهد بود. هود های شیمیایی مورد استفاده در آزمایشگاه عموما شبیه به یک کابینت بوده و یک فضای بسته دارد. دسترسی به داخل هود از درب جلویی آن می باشد که عموما کشویی می باشد. هود های شیمیایی آزمایشگاه های زیستی به سه نوع عمده تقسیم می شوند. هود بیولوژیک کلاس یک، کلاس دو و کلاس سه.

هود لامینار یا بیولوژیک کلاس یک (کابین تمیز): عموما هود بیولوژیک کلاس یک برای کار با ترکیبات شیمیایی که سریعا تبخیر می شوند و همچنین پاتوژن هایی که از خطر کمتری برخوردار هستند مورد استفاده قرار می گیرد. این نوع هود زیستی دارای یک سیستم مکنده در بخش بالایی می باشد. هنگام کار هوا از شکاف جلویی وارد هود شده و با سیستم مکنده بالا از محفظه خارج می شود. لذا این نوع هود تضمینی نمی کند که نمونه آلوده نشود و فقط از آلودگی فردی که پشت هود نشسته است محافظت می کند. چنانچه هنگام کار با نمونه، در محفظه هود آیروسل (Aerosol) و قطرات مملو از آلودگی ایجاد شوند، جریان هوای ایجاد شده در محفظه هود، آلودگی ها را به سمت کانال خروجی خود برده و مانع از آلوده شدن فرد هنگام کار می شود.

هود بیولوژیک کلاس دو: زمانی که کشت سلول در رابطه با سلول های یوکاریوت و یا پروکاریوت انجام می پذیرد و یا مسئله کشت بافت جانوری و گیاهی مطرح می گردد، ورود هوای آزمایشگاه که مملو از آلودگی های مختلف می باشد، به درون محفظه هود می تواند موجب آلودگی نمونه گردد. هود های کلاس دو از طرفی فرد را از آلودگی های ایجاد شده محافظت کرده و از طرف دیگر نمونه های مورد مطالعه را نیز از آلوده شدن توسط ذرات موجود در هوا حفظ می کنند. این نوع هود دارای یک سیستم مکنده در پایین و یک سیستم دمنده در بالا می باشد. همچنین هود کلاس دو می تواند مجهز به سیستم خارج کننده هوا نیز باشد. همانطور که اشاره شد از این نوع هود عموما برای کار با سلول های یوکاریوت، بافت و همچنین پاتوژن هایی با خطر بالا که می تواند فرد را مبتلا به بیماری کرده و افراد حاضر در آزمایشگاه را تهدید کند، استفاده می شوند. این نوع هود با سیستم مکنده خود در پایین هوای داخل محفظه را مکش کرده و پس از عبور هوا از فیلتر های مخصوص مانند هپا (HEPA) موجب استریلیزاسیون هوا شده و آن را عاری از هرگونه عوامل میکروبی می کند. حال هوای فیلتر شده از سیستم دمنده بالا به داخل محفظه دمیده شده و بدین ترتیب هوا درون هود استریلیزه می گردد. همچنین این نوع هود می تواند هوای فیلتر شده اضافی را جهت جلوگیری از افزایش فشار داخل محفظه با سیستم دیگری که وظیفه خارج سازی هوا را دارد، به بیرون هدایت کند.

هود بیولوژیک کلاس سه: این نوع هود بیولوژیک بیشترین حد حفاظت از نمونه و افراد را داراست. از این نوع هود بیولوژیک برای کار با نمونه هایی که موجب آلودگی فرد و در ادامه موجب تهدید آلوده شدن افراد در سطح جامعه می شود، استفاده میگردد. عموما نمونه های ویروسی توسط هود نوع سه مورد مطالعه قرار می گیرند. هود نوع سه به شکلی ساخته شده است که تمامی منافذ آن بسته شده و هیچ گونه تبادلی با هوای محیط به صورت مستقیم ندارد. افراد هنگام کار با این نوع هود از طریق دستکش های بسیار ضخیم لاستیکی به فضای داخل هود دسترسی دارند که انتهایشان نیز کاملا بسته است.

هود های شیمیایی مجموعا می توانند امکانات دیگری را نیز دارا باشند. انواع هود شیمیایی عموما مجهز به لامپ UV هستند که با روشن کردن آن، تمامی سطوح داخل هود شیمیایی استریلیزه شده و قبل از کار می توان از عاری بودن داخل هود از هر نوع آلودگی اطمینان داشت. همچنین داخل هود شیمیایی شیر هایی تعبیه می گردند که می توانند بسته به نیاز آب، گاز و خلاء مورد نیاز داخل هود را تأمین کنند.

PCR Work Station: هود های نوع PCR Work Station همانند هود های نوع یک می باشند که جهت آماده سازی ترکیباتی که قرار است PCR شوند به کار می رود. این نوع هود همانند هود های نوع اول سیستم مکنده و یا سیستم یکپارچه تصفیه هوا دارند. بدین شکل که هوا داخل PCR Work Station توسط سیستم مکش به بیرون رانده می شود و یا توسط دستگاه تصفیه هوا که بالای دستگاه قرار گرفته، هوا را از فیلتر های مخصوص عبور داده و آئروسل های آن را می گیرد. عموما PCR Work Station ها رومیزی بوده و خیلی بزرگ نیستند. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری با توجه به کاربری خود، همه انواع کلاس هود را داراست.

دستگاه ترمال سایکلر: که به عنوان PCR هم شناخته می شود یکی از مهم ترین تجهیزات آزمایشگاه می باشد. دستگاه ترمال سایکلر و یا PCR عموما جهت انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction) استفاده می شود. این واکنش همانطور که از نامش مشخص است، موجب پلیمریزه کردن رشته های DNAمی شود. دستگاه PCR با تغییرات دمایی با دقت و سرعت بالا امکان کپی کردن و پلیمریزه کردن مولکول های DNA را به وجود آورده است. در سیستم PCR به جای استفاده از کمپلکس های پروتئینی همانند سازی، از زیرواحد های ساده آنزیمی آن ها بهره گرفته شده است. مثلا باز شدن دو رشته DNA از هم درون سلول های زنده توسط کمپلکس آنزیمی DNA پلیمراز انجام می شود که در سیستم PCR این کار توسط بالا بردن دما درون بلاک PCR انجام می پذیرد. به عنوان مثال در Basic PCR که پایه ای ترین نوع PCR است، ابتدا دما توسط دستگاه تا نزدیکی ۹۵ درجه بالا رفته و موجب باز شدن دو رشته می گردد، سپس دما به سرعت کاهش یافته و موجب اتصال پرایمر به رشته DNA میگردد. سپس با افزایش دوباره دما آنزیم DNA پلیمراز به رشته DNA متصل شده و همانندسازی را آغاز می کند. تمامی این مراحل درون سلول های زنده توسط آنزیم های مختلف انجام می شود که به دلیل دشواری در تنظیم اتصال و رهایش دقیق این آنزیم ها در محیط in-vitro، این مراحل با افزایش و کاهش دما توسط دستگاه PCR انجام می پذیرد. اهمیت دستگاه PCR در این می باشد که ما هیچ گاه نمی توانیم مقادیر بسیار کم DNAو RNA را مورد سنجش و بررسی قرار دهیم. لذا با افزایش تعداد کپی های آن می توان به راحتی نمونه خود را مورد بررسی قرار داد. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری با داشتن دستگاه PCR با بالاترین کیفیت در زمینه روشهای مختلف PCR به دانشجویان خدمات ارائه کرده و دوره های کارآموزی مرتبط برگزار می کند.

سیستم های الکتروفورز افقی و عمودی: الکتروفورز به معنای حرکت ذرات درون یک محیط مخلخل تحت میدان الکتریکی می باشد. در الکتروفورز ذرات بر اساس بار و جرم مولکولی در محیط مخلخل چینش پیدا می کنند. این تکنیک در آزمایشگاه های زیست شناسی جهت جداسازی ماکرومولکول های DNA و پروتئین به کار گرفته می شود. یکی از مهم ترین نکات باردار بودن این مولکولها می باشد، ژل به دلیل تخلخل خود می تواند اجازه عبور مولکول ها را از خلال خود داده و آن ها را براساس بار و اندازه از هم جدا کند. الکتروفورز در آزمایشگاه های زیست شناسی به دو شکل افقی و عمودی انجام می پذیرد. در الکتروفورز افقی عموما از ژل آگارز و در الکتروفورز عمودی از ژل آکریل آمید استفاده می شود. بسته به شرایط می توان درصد ژل و در نتیجه قطر منافذ ژل را تغییر داده و الکتروفورز را انجام داد. هرچقدر

که قطر منافذ ژل کمتر باشد حرکت ماکرومولکول ها در ژل کندتر خواهد بود. تانک های الکتروفورز دو قطب دارند که یک قطب مثبت و قطب دیگر منفی می باشد. بسته به بار مولکولی که قرار است الکتروفورز شود، نمونه را در قطب هم بار آن قرار می دهیم. به عنوان مثال مولکول های DNA بار منفی داشته و در سمت قطب بار منفی لود می شود. پس از اتصال منبع تولید کننده میدان، مولکول های DNA از سمت قطب منفی به سمت قطب مثبت شروع به حرکت در طول ژل می کنند. یکی از قوانین پایه در الکتروفورز این است که مولکول هایی که از نظر اندازه کوچک تر هستند، سریعتر در ژل حرکت کرده و به سمت قطب مخالف بیشتر نزدیک می شوند. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری با بهترین و با کیفیت ترین تجهیزات الکتروفورز در زمینه های مختلف زیست شناسی سلولی مولکولی به دانشجویان خدمات ارائه کرده و دوره های کارآموزی مرتبط برگزار می کند.

سیستم ژل داک ***(Gel Documentation System):*** برای مشاهده ژل های الکتروفورز شده با اشعه UV از دستگاه ژل داک استفاده می شود. ژل داک یک محفظه عایق به نور است که مواد الکتروفورز شده که با مواد فلوئورسنت رنگ آمیزی شده اند، داخل آن قرار گرفته و توسط نور UV بررسی می شوند. دستگاه ژل داک نور را در محدوده UV و یا مرئی به ژل می تاباند و مواد حساس به فلوئورسنت که به DNA یا پروتئین چسبیده اند، باند های تشکیل شده را نشان می دهند. اینکه نور تابانده شده UV باشد و یا مرئی بستگی دارد از چه نوع ماده فلوئورسانتی استفاده شده است و همچنین نوع ماده فلوئورسانت مورد استفاده را نمونه و نوع ژل مشخص می کند. این که نمونه DNA باشد یا پروتئین و یا نوع ژل آگارز باشد یا آکریل آمید می تواند در نوع فلوئورسانت استفاده شده دخیل باشد. عموما دستگاه های ژل داک به یک سیستم کامپیوتر و دوربین عکاسی نیز متصل بوده و نتایج را در مانیتور نشان داده و تصاویر را می توان ثبت کرد. روند کار دستگاه به این شکل است که، به عنوان مثال در نمونه DNA و در ژل آگارز از اتیدیوم بروماید (EB) به عنوان یک ماده فلوئورسانت استفاده می شود (امروزه از این ماده کمتر استفاده می شود)، دستگاه ژل داک با تاباندن نور UV به ژل الکترون های اتم های EB را تهییج کرده و موجب باز نشر نوری در طول موج بلند تر و طبیعتا محدوده مرئی تولید می کند و باند های تشکیل شده در ژل به رنگ سبز دیده می شوند. از دیگر ترکیبات فلوئورسنت معروف می توان به سایبر گرین (SYBR Green) اشاره کرد. امروزه دستگاه های ژل داک به سیستم های حرارتی نیز مجهز بوده و با حساسیت و دقت بالاتری محل قرارگیری باند ها را مشخص می کنند.

Real-Time PCR: دستگاه Real-Time PCR جهت بررسی میزان بیان ژن های موجودات زنده توسعه یافته است. محدودیتی که سیستم PCR ساده بوجود آورده است عدم توانایی بررسی کمی میزان بیان یک ژن می باشد. لذا سیستمی تحت عنوان Real-Time PCR ساخته شده و توسعه یافته است. آن چه که مشخص است هدف نهایی ژن های موجودات زنده ساخت محصولاتی از جنس RNA و پروتئین است. آن چه که می تواند مشخص کند یک سلول چه ویژگی هایی را در سطح فنوتیپی دارد و به چه میزان آن ویژگی را بروز می دهد پروتئین یا RNA های آن سلول می باشد. همچنین جهت مقایسه دو سلول از نظر ویژگی های فنوتیپی نمی توان آن ها را در سطح DNA بررسی نمود، چرا که DNA همیشه ثابت بوده و یک ژن مشخص در بین موجودات یک گونه شباهت بسیاری به هم دارد و هیچ نشانه ای از میزان بیان آن ژن عرضه نمی کند. لذا بررسی بیان یک ژن می تواند در سطح RNA و یا پروتئین انجام پذیرد. از طرفی بسیاری از ژن ها در نهایت به RNA تبدیل شده و نقششان را تحت عنوان RNA به انجام می رسانند. در نتیجه در برخی موارد محصول ژنی به شکل RNA عرضه شده و هیچ گاه قرار نیست به پروتئین ترجمه شود. در اینصورت برای بیان آن ژن مشخص که فقط رونویسی می شود ولی ترجمه نمی شود، فقط RNA مورد بررسی قرار می گیرد.

مولکول RNA به دلیل داشتن اکسیژن در کربن شماره ۲ و همچنین تک رشته و کوتاه بودن آن، نسبت به مولکول های DNA واکنش پذیر تر بوده و تخریب پذیری بالایی دارد. در سیستم Real-Time PCR جهت بررسی بیان یک ژن، ابتدا با کمک آنزیم رونوشت بردار معکوس (Reverse Transcriptase) مولکول های RNA را به DNA های مکمل که عموما cDNA نامیده می شوند، تبدیل می کنند. پس از پایداری مولکول مورد سنجش، وارد سیکل های Real-Time PCR شده و بیان ژن، مورد بررسی قرار می گیرد. دستگاه Real-Time PCR از یک سیستم اپتیکی بهره برده که توسط آن میزان DNA هر نمونه محاسبه می گردد.

زمانی که cDNA سنتز شد، پس از آماده سازی نمونه جهت ورود به سیکل های پلیمریزه شدن، به نمونه DNA رنگی تحت عنوان سایبر گرین (SYBR Green) اضافه می گردد. سایبر گرین موجب رنگ شدن DNA شده و همچنین خود دارای خاصیت فلورسانتی می باشد. زمانی که Real-Time PCR سیکل های پلیمریزاسیون

خود را شروع کرد، به ازای ساخته شدن رشته های DNA جدید، رنگ سایبر گرین به رشته متصل می شود و دستگاه Real-Time PCR توسط سیستم اپتیکی خود خوانش فلورسانتی را شروع می کند. لذا دستگاه Real-Time PCR با خاصیت فلورسانتی سایبر گرین برای هر نمونه یک گراف تکثیر ترسیم می کند. هر نقطه از گراف تکثیر نشان دهنده میزان اتصال سایبر گرین به رشته DNA می باشد و در نهایت گراف که در نمایشگر متصل شده به دستگاه Real-Time PCR به نمایش در آمده، به آستانه خود می رسد. این میزان نشان دهنده میزان DNA بیان شده در هر نمونه می باشد. لذا با توجه به اینکه مقایساتی که کمی گزارش می شوند نسبت به گزارشات کیفی از ارزش بالاتری برخوردار هستند، تکنیک Real-Time PCR نیز نسبت به تکنیک هایی چون RT-PCR که میزان RNA تولید شده در سلول را به شکل کیفی گزارش می کند، از ارزش بالاتری برخوردار می باشد. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری با داشتن دستگاه Real-Time PCR دوره های کارآموزی مرتبط برگزار کرده و به دانشجویان خدمت ارائه می نماید.

سیستم کامل ***SDS-PAGE*** و ***Western Blot***: زمانی که بیان یک ژن مورد سنجش قرار می گیرد، می تواند در دو سطح ژنومی و پروتئومی بررسی شود. تکنیک های SDS-PAGE و Western Blot جهت بررسی و سنجش تولید پروتئین های سلول ها به کار می روند.

SDS-PAGE: SDS-PAGE به اختصار به معنای Sodium Dodecyl Sulfate – Poly Acrylamide Gel Electrophoresis می باشد. در این تکنیک پروتئین ها الکتروفورز شده و بر اساس اندازه در ژل مرتب می شوند. این نوع تکنیک نیاز به سیستم الکتروفورز معمولی از نوع عمودی (به دلیل نوع ژل) دارد. در این روش از سدیم دودسیل سولفات (SDS) به جهت یکسان سازی بار پروتئین های لود شده در ژل و مرتب سازی فقط براساس وزن مولکولی استفاده می شود. یعنی اگر پروتئین ها بدون SDS مورد سنجش قرار بگیرند، علاوه بر فاکتور وزن مولکولی، فاکتور بار هر یک از پروتئین ها نیز در حرکت آنها دخیل خواهد بود. اما SDS سطح پروتئین ها را از بار منفی پر کرده و موجب هم بار شدن آن ها می گردد. در تکنیک SDS-PAGE فقط می توان حضور یا عدم حضور یک پروتئین را بررسی کرد و همچنین وزن مولکولی نسبی آن را مشخص نمود. البته باید توجه داشت که ممکن است دو پروتئین متفاوت وزن مولکولی یکسانی داشته و در SDS-PAGE در یک نقطه قرار بگیرند. اگر حضور یا عدم حضور یک پروتئین نیاز به سنجش با حساسیت بالا داشته باشد، از تکنیک الکترفورز دو بعدی (2D-Electrophoresis) استفاده می شود. در تکنیک SDS-PAGE هر پروتئینی که وزنش کمتر باشد راحت تر از منافذ ژل عبور کرده و حرکت بیشتری در ژل خواهد داشت.

Western Blot: تکنیک Western یکی دیگر از تکنیک های مربوط به پروتئین ها می باشد که در آن بیان یا عدم بیان ژن هایی که منجر به تولید پروتئین در سلول های موجودات زنده می شوند، بررسی می شود. این تکنیک از اتصال اختصاصی آنتی ژن و آنتی بادی بهره برده و توسط اتصال آنتی بادی اختصاصی به پروتئین مورد نظر، بیان و تولید آن بررسی می شود. در تکنیک Western پروتئین ها پس از مرتب سازی در ژل SDS-PAGE ، به غشاء مخصوص منتقل شده و سپس با آنتی بادی اختصاصی و سپس با آنتی بادی ثانویه شناسایی می شوند. لذا در نهایت وجود یا عدم وجود پروتئین و همچنین در صورت وجود، میزان آن به شکل کیفی مشخص می شود. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری بسته به نیاز خود، سیستم SDS-PAGE و Western را با بهترین کیفیت راه اندازی کرده است. همچنین این آزمایشگاه به آموزش و ارائه خدمات تکنیک های SDS-PAGE و Western در دوره های کارآموزی مختلف خود می پردازد .

انکوباتور(***Incubator***): انکوباتور دستگاهی است که یک محیط ایزوله، کنترل شده و بدون باکتری را برای کشت سلول و بافت ایجاد میکند. انکوباتور از تجهیزاتی است که امکان تنظیم دما، رطوبت، میزان اکسیژن و CO2 را برای ایجاد شرایط خاص در اجرای یک فرآیند فراهم می کند. دستگاه های انکوباتور دارای کاربرد ها و اندازه های مختلف و همچنین طیف وسیعی از امکانات می باشند. این دستگاه در بسیاری از زمینه های تحقیقاتی از قبیل زیست شناسی سلولی، میکروب شناسی، زیست شناسی ملکولی برای کشت سلول و باکتری استفاده می شوند . علاوه بر آن، انکوباتور ها معمولاً در طیف گسترده ای از برنامه های کاربردی مانند تحقیقات بیوشیمیایی، مطالعات خون شناسی، تحقیقات ژنتیکی، فرآورده های داروئی و مواد غذایی نیز مورد استفاده قرار می گیرند. از انکوباتور همچنین در صنایع طیور استفاده می شود. نوع دیگری از انکوباتور ها در موارد پزشکی جهت رشد نوزادان نارس استفاده می شود. بیشترین کاربرد انکوباتور ها در آزمایشگاه های میکروبی و از نوع انکوباتور آزمایشگاهی می باشد. چگونگی انتخاب یک انکوباتور معمولا به ظرفیت و اندازه آن بستگی دارد و در مواردی که کاربرد خاصی مد نظر باشد امکانات اضافی آن نیز در نظر گرفته می شود. انواع انکوباتور از نظر اندازه شامل مدل ایستاده در کف، مدل اتاق و مدل رومیزی (Benchtop) می باشد. انواع انکوباتور آزمایشگاهی شامل انکوباتور معمولی، انکوباتور یخچال دار (خنک کننده) و انکوباتور آزمایشگاهی CO2 و انکوباتور شیکر دار آزمایشگاهی می باشد.

انکوباتور معمولی: این انکوباتور ها در واقع ساده ترین نوع انکوباتور در آزمایشگاه هستند که برای تأمین دمایی بالاتر از دمای محیط مورد استفاده قرار می گیرند. انکوباتور معمولی در انواع آنالوگ و دیجیتال در بازار تجهیزات آزمایشگاهی موجود می باشد.

انکوباتور یخچال دار (خنک کننده): انکوباتور یخچال دار یا Cooling تجهیزی است امکان تأمین دما از چند درجه پایین تر از دمای محیط تا دمایی بالاتر از دمای محیط آزمایشگاه را دارا می باشد.

انکوباتور آزمایشگاهی ***CO2:*** این انکوباتور ها علاوه بر توانایی کنترل دما امکان کنترل رطوبت و pH محیط را نیز از طریق انتشار گاز CO2 دارا می باشند، به گونه ای که معمولا حفظ شرایط با نگه داشتن سطح رطوبت روی ۹۵٪ و سطح CO2 روی ۵٪ انجام می گیرد.

انکوباتور شیکر دار آزمایشگاهی: انکوباتور شیکر دار نوع دیگری از انکوباتور های آزمایشگاهی می باشد که علاوه بر کنترل دمای درون محفظه، امکان بهم خوردن محلول به صورت اوربیتالی و یا دورانی را نیز در صورت لزوم مهیا می کند.

دستگاه سانتریفیوژ (سانتریفیوژهای معمولی، اولترا و یخچال دار): جداسازی ترکیبات براساس وزن مولکولی با قوانین و روش های فیزیکی، یکی از ساده ترین و ارزشمندترین راهکار ها در آزمایشگاه های مختلف می باشد. سیستم سانتریفیوژ جداسازی مواد از یکدیگر را با به کارگیری نیروی گریز از مرکز ارائه می کند. سانتریفیوژ یکی از دستگاه های حیاتی در آزمایشگاه های زیست شناسی می باشد که در ابعاد و اشکال مختلف ساخته می شود. سانتریفیوژ های آزمایشگاهی عموما به شکل یک جعبه که درون آن جا لوله های مختلف وجود دارند، می باشد. سانتریفیوژ با چرخاندن مواد در سرعت های بالا موجب جداسازی مواد بر اساس وزن مولکولی می شود. ترکیبات درون یک محلول را اگر به شکل امولسیون و یا مخلوط همگن باشند نمی توان در مدت کوتاه بدون اعمال نیروی خاصی جدا کرد. لذا سیستم سانتریفیوژ با اعمال نیروی گریز از مرکز موجب می شود ترکیبات به ترتیب وزن مولکولی خود فاز های جدا از هم تشکیل دهند. اگر محلول ما حاصل از مخلوط کردن دو مایع باشد پس از سانتریفیوژ دو فاز مایع جدا از هم حاصل می شود. همچنین اگر مخلوط ما ترکیب جامد در مایع باشد، در کف لوله ای که تحت نیروی گریز از مرکز قرار گرفته فاز جامد به شکل رسوب و فاز مایع بالای آن که همان حلال است قرار می گیرد.

از سانتریفیوژ در آزمایشگاه های زیست شناسی، جهت جداسازی بیومولکول های مختلف سلولی بهره گرفته می شود. چرا که مولکول های اصلی تشکیل دهنده سلول ها شامل کربوهیدرات ها، لیپید ها، پروتئین ها و اسید های نوکلئیک بوده و این ترکیبات به شکل های مختلف درون سلول ها شناور هستند. جهت جداسازی هریک از این ها می توان از سانتریفیوژ با دور های مختلف بهره گرفت. عموما تمامی سانتریفیوژ های آزمایشگاهی دو آیتم قابل تنظیم دارند. سرعت و زمان چرخش. سرعت عموما با دو واحد RPM و RCF ارائه می شود RPM یا Revolutions Per Minute نشان دهنده تعداد دور هایی است که روتور سانتریفیوژ در یک دقیقه می زند. همچنین RCF یا Relative Centrifugal Force نشان دهنده نیروی نسبی سانتریفیوژ می باشد که عموما با حرف G نیز نشان می دهد. مفهوم RPM مشخص است ولی در رابطه با RCF و یا G مقدار آن بستگی به شتاب وارده به نمونه دارد و با براساس فاصله نمونه با مرکز چرخش روتور تعیین می شود و نسبت به RPM استاندارد تر است. چرا که به عنوان مثال در دو سانتریفیوژ با شعاع های روتور مختلف ولی سرعت چرخش یکسان، مقدار G فرق خواهد داشت. لذا اگر میزان ۲۰ هزار Gرا وارد دو سانتریفیوژ با شعاع روتور مختلف وارد کنیم، سرعت چرخش در هر یک تفاوت خواهد داشت. مقادیر RPM و PCF قابل تبدیل به هم می باشند و هر یک RCF برابر با $(RPM^2 \times r \times 10^{-5} \times 1.118)$ می باشد که r نشان دهنده شعاع روتور به سانتی متر است.

این رابطه نشان دهنده دخیل بودن فاکتور شعاع روتور بوده و به عنوان مثال اگر دو سانتریفیوژ با شعاع روتور های ۵ سانتی متر و ۱۰ سانتی متر وجود داشته باشند و قرار باشد در مقدار ۱۰ هزار RPM بچرخند، در سانتریفیوژ با روتور ۵ سانتی متر میزان G برابر با ۵/۵۹۰ و در سانتریفیوژ با روتور ۱۰ سانتی متر برابر با ۱۱/۱۸۰ خواهد بود. سانتریفیوژ ها از نظر تقسیم بندی به چهار نوع عمده تقسیم می شوند: سانتریفیوژ معمولی دور پایین، سانتریفیوژ معمولی دور بالا، سانتریفیوژ یخچال دار دور بالا، اولترا سانتریفیوژ

سیستم یخچالی در سانتریفیوژ های دور بالا از اهمیت ویژه ای برخوردار است. چرا که با افزایش سرعت چرخش روتور، گرمای زیادی از موتور آن حاصل می شود که در صورت حساسیت به دما ترکیباتی که سانتریفیوژ می شوند، با خنک کردن محفظه آن توسط سیستم یخچالی، احتمال وارد شدن آسیب به نمونه از بین می رود.

ترکیباتی مانند پروتئین ها به دما حساس بوده و در دما های بالا ساختار های سه بعدی خود را از دست می دهند. لذا این مسئله اهمیت وجود یخچال را نشان می دهد.

دستگاه ***HPLC***: HPLC در واقع دستگاهی است برای جداسازی، شناسائی و مقدار سنجی اجزای یک ترکیب. کروماتوگرافی از دو بخش کروماتو به معنای رنگ و گرافی به معنای ترسیم می باشد و نشانگر متد قدیمی تفکیک مواد بر اساس رنگ می باشد. معادل کلمات لاتین گفته شده بالا کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا می باشد. که با توجه به استفاده حلال ها با فشار بسیار بالا لفظ کروماتوگرافی مایع با فشار بالا هم می تواند استفاده شود.

دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ ***(Spectrophotometer Nanodrop):*** هر نمونه ای که در آزمایشات مختلف مورد استفاده قرار می گیرد نیاز به سنجش غلظت دارد. هیچ گاه نمی توان بدون اطلاع از غلظت یک ماده حل شده در یک محلول اقدام به اعمال هرگونه آزمایشی بر روی آن نمونه کرد. تکنیک اسپکتروفوتومتری یکی از بهترین راه های سنجش غلظت مواد مختلف حل شده در یک حلال می باشد. اسپکتروفوتومتری در آزمایشگاه های مختلف با زمینه های گوناگون مورد استفاده قرار می گیرد. اساس این تکنیک بر پایه تابش نور تکفام با طول موج مشخص و سپس سنجش میزان جذب نوری توسط محلول می باشد. از آنجایی که در آزمایشگاه های زیست شناسی اکثر موادی که نیاز به سنجش غلظت دارند جذب در محدوده فرابنفش و مرئی دارند، از دستگاه های اسپکتوفوتومتر که در این محدوده کار می کنند استفاده می شود. دانشمندانی به نام بیر و لامبرت قانونی را جهت سهولت دستیابی به غلظت ماده مورد سنجش تبیین کردند. طبق قانون بیر-لامبرت، دستیابی به غلظت یک ماده حل شده درون محلول، نیازمند محاسبه جذب نوری، ضریب جذب ماده حل شونده و طول ظرف نمونه می باشد. همچنین بیر و لامبرت به خوبی نشان دادند که میزان جذب نوری با غلظت ترکیب مورد نظر رابطه مستقیم دارد. بعبارتی هرچقدر غلظت ترکیب بیشتر باشد، میزان جذب نوری آن بیشتر خواهد بود. البته یکی از نکات بسیار مهم در تکنیک اسپکتروفوتومتری، وجود جذب نوری برای ترکیب مورد نظر می باشد. یعنی ترکیبی که قرار است مورد سنجش قرار بگیرد

باید در محدوده نور مرئی و فرابنفش و در یک طول موج مشخص بالاترین جذب را دارا باشد. همچنین باید توجه داشت که اگر دو ترکیب در یک طول موج پیک جذبی دارند، نمی توان آن دو را باهم در همان طول موج مورد سنجش قرار داد. چرا که هر دوی ترکیبات در آن طول موج نور را جذب کرده و نمی توان غلظت هریک را به درستی تعیین نمود. در چنین شرایطی از ترکیباتی که بتوانند یکی از ترکیبات هم پوشان را خاموش (Quench) کند، استفاده می شود تا در آن طول موج فقط یک ترکیب جذب نوری داشته باشد. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری یکی از پیشرفته ترین انواع دستگاه های اسپکتروفوتومتر را که دستگاه نانودراپ (NanoDrop) نامیده می شود، داراست. نانودراپ یکی از انواع دستگاه های اسپکتروفوتومتر است که نسبت به دستگاه های قدیمی برتری های زیادی دارد. نانودراپ می تواند جذب چندین نمونه را با دقت بسیار بالا به شکل همزمان اندازه گیری کند. همچنین نانودراپ به کامپیوتر متصل شده و با نرم افزار های مرتبط لینک شده و تمام محاسبات را به شکل خودکار انجام می دهد. یکی دیگر از برتری های این دستگاه، نیاز به نمونه در حجم های بسیار کم می باشد.

یخچال معمولی: به منظور نگهداری مواد آزمایشگاهی و جلوگیری از خراب شدن آن ها و همچنین نگهداری سلول های مختلف به شکل زنده از انواع یخچال ها استفاده می شود. معمول ترین یخچال همان یخچال های آشپزخانه می باشند که عموما در دمایی بین ۳ تا ۷ درجه سانتی گراد تنظیم می شوند. این نوع یخچال برای نگهداری ترکیباتی که زیاد به دما حساس نیستند مورد استفاده قرار می گیرد.

یخچال فریزر منفی ۲۰ درجه: مدل بعدی فریزر های منفی ۲۰ هستند که عموما همان فریزر های معمولی که در آشپزخانه ها استفاده می شوند، می باشند. این نوع فریزر برای نگهداری ترکیباتی که تا حدودی نسبت به دما حساس هستند مورد استفاده قرار می گیرند. همچنین در برخی از پروتکل ها برای فریز کردن سلول ها از فریزر منفی ۲۰ استفاده می شود.

یخچال فریزر منفی ۸۶ درجه: فریزرهایی با دما های پایین تر نیز وجود دارند که مخصوصا با کاربری آزمایشگاه ساخته می شوند. این فریزرها در دو دمای منفی ۴۰ و منفی ۸۶ موجود هستند. هر کدام از فریزر ها بسته به کاربری آزمایشگاه و ترکیباتی که در آن نگهداری می شوند انتخاب می شوند. همچنین بخشی از پروتکل فریز کردن سلول ها شامل قرار دادن موقتی آن ها در فریزر منفی ۸۶ می باشد.

تانک ازت: با اینکه امروزه در آزمایشگاه ها انواع یخچال ها یافت می شود که دما های مختلف را برای نگهداری نمونه های آزمایشگاهی تأمین می کنند اما گاهی اوقات دمای یخچال های موجود بالاتر از میزان مورد نیاز بوده و برای نگهداری طولانی مدت برخی از نمونه های دما های پایین تری لازم است. تانک ازت یکی از ابزار های مورد استفاده در آزمایشگاه های زیست شناسی می باشد که جهت تأمین دما های خیلی پایین مورد استفاده قرار می گیرد. در آزمایشگاه های کشت سلول و برخی اوقات میکروبیولوژی برای فریز کردن و نگه داری طولانی مدت سلول ها به شکل زنده، باید سلول ها در دما های پایین نگهداری شوند.

همانطور که ذکر شد در بین یخچال های آزمایشگاهی پایین ترین دما مختص فریزر های منفی ۸۶ درجه سانتی گراد می باشد و این دما برای زنده نگه داشتن طولانی مدت سلول ها مناسب نیست. لذا تانک ازت که محتوی نیتروژن مایع حاصل از تقطیر جزء به جزء هوا می باشد، دمایی معدل منفی ۱۹۶ درجه سانتی گراد را تأمین می کند. تانک ازت دارای یک درب در بالا می باشد که نیتروژن مایع و همینطور نمونه های مورد نظر از آن وارد سیستم تانک می شود. تانک ازت می تواند در سایز های مختلف ساخته شود. سعی بر آن بوده که یک تانک ازت زمانی که درب آن بسته است، شبیه به یک سیستم ایزوله باشد تا تبادلات انرژی و ماده با محیط نداشته باشد که بدین صورت مدت بیشتری نیتروژن درون آن به شکل مایع باقی مانده و دما بالا نرود. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری بسته به نیاز انواع سیستم های

یخچالی و فریزری معمولی و منفی ۸۶ درجه سانتی گراد را داراست. همچنین آزمایشگاه کشت جامع تحقیقات و فناوری شامل دو تانک ازت می باشد که یکی از آن ها ثابت و دیگری تانک ازت سفری جهت ارسال و دریافت نمونه به نقاط مختلف می باشد.

ترازوی حساس آزمایشگاهی: توزین در آزمایشگاه ها با دقت بالا بسیار مهم است. چرا که ساخت محلول هایی با غلظت دقیق از انحلال وزن مشخصی از یک ماده جامد درون حلال به دست می آید. وزن ماده جامد باید با دقت اندازه گیری شده و به محلول اضافه شود. اینکار توسط ترازو حساس آزمایشگاهی انجام می شود. ترازو حساس با دقت های مختلف بسته به نوع کاربری ساخته می شوند. عموما ترازو های حساس آزمایشگاهی در دقت های ۰/۰۰۱ گرم، ۰/۰۱ گرم و ۰/۱ گرم تولید می شوند. هر گرم هزار میلی گرم می باشد و به دلیل ساخت محلول ها در حجم های کم، توزین مواد جامد برای انحلال در حد میلی گرم انجام می شود. مواد شیمیایی را هیچ‌گاه مستقیم روی ترازو قرار نمی‌گیرند و همیشه با وسایلی همچون شیشه ساعت حمل و وزن می‌شوند. ترازوهای آزمایشگاهی را نباید حرکت داد زیرا برای محلی که قرار دارند کالیبره شده‌اند. برای وزن کردن مواد، ابتدا باید ظرف خالی را روی ترازو قرار دهید و دکمه (Zero) یا (Tare) را فشار دهید. با این کار وزن ترازو صفر می‌شود و در حقیقت نیازی به تصحیح وزن ظرف ندارید. بعد از صفر کردن وزن، ماده مورد نظر را روی شیشه ساعت بریزید و وزن کنید. فراموش نکنید که برای اضافه کردن مواد به ظرف، حتما آن را از روی ترازو بردارید. با توجه به اینکه دقت این ترازوها زیاد است، جریان هوا و گرد و غبار بر میزان دقت آن تاثیرگذار هستند و همیشه ترازو باید بدون گرد و غبار و دور از جریان هوا باشد.

دستگاه خوانشگر میکروپلیت (***Microplate – Reader***): دستگاه میکروپلیت ریدر معمولاً به نام های میکروفتومتریک – پلیت ریدر ، دستگاه الایزا ریدر و خوانش گر الایزا نیز نامیده می شود. این دستگاه یک اسپکتروفتومتر تخصصی بوده که به منظور قرائت نتایج فتومتریک آزمایش الایزا طراحی شده است. از تکنیک الایزا به منظور تعیین حضور آنتی بادی ها یا آنتی ژن های اختصاصی استفاده می شود. این تکنیک براساس تشخیص یک آنتی ژن یا آنتی بادی روی یک سطح جامد به صورت مستقیم یا ثانویه، به کمک آنتی بادی های نشاندار در نمونه ها و ایجاد شدن محصولاتی استوار است که می توان آنها را توسط اسپکتروفتومتر خواند. دستگاه

میکروپلیت ریدر برای خواندن نتایج تست های الایزا مورد استفاده قرار می گیرد. این تکنیک کاربردی مستقیم در ایمنولوژی و سرولوژی دارد. از میان کاربردهای این وسیله می توان به تایید حضور آنتی بادی ها یا آنتی ژن های یک عامل عفونی، اثبات وجود آنتی بادی های اختصاصی یک واکسن و یا اتوآنتی بادی ها در نمونه اشاره کرد.

حمام آب (***Water Bath***)یا (به فرانسوی***Bain Marie***): وسیله ای در آزمایشگاه های شیمی و زیست شناسی که دمای مشخصی را به نمونه می دهد. دستگاه بن ماری یک محفظه ای است که درون آن آب قرار می گیرد و آب درون بن ماری توسط المنت های داخل آن گرم می شود. ممکن است برخی بن ماری ها به جای آب روغن درون آن ها قرار بگیرد. این سیستم از دقت کمتری نسبت به ابزارهای دیگر برخوردار بوده و عموماً برای نمونه های محلول که نیاز به انکوباسیون در یک محدوده دمای مشخص دارند و زیاد به تغییرات دمایی حساس نیستند استفاده می شود. سیستم های بن ماری علاوه بر تنظیم دما سیستم تنظیم زمان و تایمر نیز دارند و مدت زمان مشخصی نمونه را در معرض دمای مشخص نگه می دارند.

هات بلاک (***Hot Block***): هات بلاک یکی از انواع دستگاه هایی است که برای انکوبه کردن تیوب ها در حجم های مشخص استفاده می شود. عموما هات بلاک ها تیوب های مختلف ۱/۵میلی لیتر، ۰/۲ میلی لیتر و ... را در خود جای می دهند. هات بلاک می تواند به سیستم تایمر نیز مجهز بوده و طبق زمان تعریف شده نمونه را انکوبه کند. عموما از این دستگاه برای تبخیر آب نمونه استفاده می شود. برای انکوباسیون تیوب های کوچک با دقت بالا می توان از دستگاه ترمال سایکلر (PCR) نیز استفاده کرد ولی در صورتی که دقت دمایی زیاد اهمیت نداشته باشد هات بلاک به کار می رود.

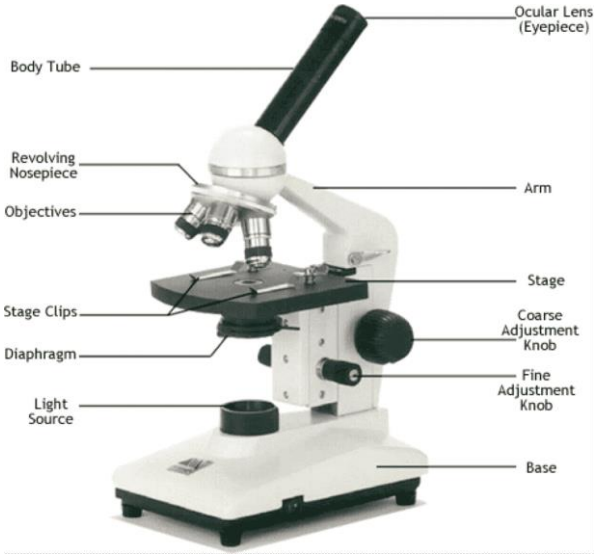
سمپلر های معمولی و کریستالی: سمپلر یکی از مهم ترین و پرکاربردترین وسایل در آزمایشگاه های زیست شناسی مخصوصا آزمایشگاه های ژنتیک، بیوتکنولوژی، میکروبیولوژی و کشت سلول می باشد. سمپلر به عبارت ساده یک پیپت است که مایعات را در مقیاس های مختلف جابجا می کند. در آزمایشگاه ها انواع سمپلر ها وجود دارند. سمپلر می تواند ثابت یا متغیر باشد. سمپلر های ثابت حجم مشخصی از مایعات را جابجا می کنند و قابلیت تغییر در حجم را ندارند. مثلا سمپلر ثابت ۱۰۰ میکرولیتر، فقط حجم مذکور را می تواند جابجا کند. اما سمپلر های متغیر قابل تنظیم بوده و می توان بر اساس نیاز حجم آن ها را در بازه مشخص خود سمپلر تنظیم نمود. همچنین سمپلر ها در دو نوع دستی و اتوماتیک وجود دارند. سمپلر های دستی یک شاسی داشته که با فشار دادن و رها کردن آن عمل مکش را انجام می دهند. سمپلر های نوع اتوماتیک عمل مکش را با سیستم الکترونیکی و مکانیکی خود انجام می دهند.

آزمایشگاه جامع تحقیقات مجهز به سه نوع سمپلر از بهترین کیفیت و جنس، در بازه های حجمی مختلف می باشد. سمپلر های آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری بسته به نیاز، در سه نوع هزار، صد و کریستالی می باشد. سمپلر هزار قابلیت جابجایی محلول از صد تا هزار میکرولیتر را داراست. از این سمپلر در آزمایشگاه های کشت، میکروبیولوژی و ژنتیک استفاده می شود. سمپلر صد که قابلیت جابجایی محلول از ده تا صد میکرولیتر را دارد و سمپلر کریستالی که قابلیت جابجایی محلول از نیم تا ده میکرولیتر را می تواند انجام دهد. دو نوع سمپلر صد و کریستالی در آزمایشگاه های ژنتیک و سیتوژنتیک بیشتر استفاده می شود. برای سمپلر هزار از سرسمپلر های آبی رنگ، سمپلر صد از سرسمپلر های زرد رنگ و برای سمپلر کریستالی از سرسمپلر های سفید رنگ استفاده می شود. سرسمپلر را تیپ نیز می نامند. برای تنظیم سمپلر به حجم دلخواه، ابتدا قفل آن را به حالت باز تغییر داده و سپس با پیچ مخصوص سمپلر تنظیم می شود. اعداد متغیر روی سمپلر نشان دهنده حجمی از محلول است که می تواند جابجا کند. پس از تنظیم کردن عدد مورد نظر، سمپلر را دوباره به حال قفل در می آوریم. اعداد بالای خط، نشان دهنده مقدار صحیح حجم و اعداد زیر خط نشان دهنده مقدار اعشار حجم می باشند. سمپلر ها یک شاسی بالای خود دارند که کار آن ایجاد مکندگی و دمندگی درون تیپ می باشد. این شاسی دارای دو مرحله می باشد. توجه داشته باشید که هرچقدر عدد حجمی سمپلر بیشتر باشد، شاسی آن بالاتر خواهد آمد. پس از انجام کار با سمپلر، تیپ استفاده شده درون سطل مخصوص زباله های آزمایشگاهی، انداخته می شود. اینکار با شاسی مخصوص کنار سمپلر انجام می گردد. در حین استفاده از سمپلر هیچ گاه نباید بعد از ورود تیپ به درون محلول شاسی سمپلر فشار داده شود. اینکار موجب ایجاد حباب در محلول می گردد و ممکن است از عمر مفید سمپلر بکاهد. همچنین زمانی که تیپ درون محلول است، نباید شاسی سمپلر به شکل ناگهانی رها گردد. اینکار موجب وارد شدن حجم ناصحیح از محلول درون تیپ می گردد. اگر هنگام اضافه کردن محلول، نوک تیپ درون محلول قرار گرفته باشد، شاسی تا مرحله یک، جهت ریخته شدن محتویات تیپ فشار داده می شود و رها کردن آن پس از خارج کردن تیپ از درون مایع صورت می گیرد. در صورت رها کردن شاسی درون محلول، موجب می شود محلول داخل تیوب دوباره به داخل تیپ بازگردد.

مینی فیوژ (ورتکس و اسپین): در آزمایشگاه ها همیشه نیاز به سانتریفیوژ با دور های بالا نیست. برخی اوقات سانتریفیوژ در دور های خیلی پایین نیز می تواند مؤثر باشد. دستگاه اسپین و ورتکس که تحت عنوان مینی فیوژ نیز نامیده می شود، به رسوب گیری و انحلال در دور های پایین کمک می کند. برخی اوقات محلول داخل تیوب آنقدر کم است که به دیواره چسبیده و نیروی چسبندگی محلول از نیروی جاذبه وارده بسیار بیشتر می باشد و نمی توان به آسانی قطرات محلول را به ته تیوب آورد. در این موارد می توان از دستگاه اسپین استفاده نموده و در دور های پایین چرخش و نیروی گریز از مرکز محلول را به ته تیوب راند. همچنین برخی اوقات رسوبات درون محلول بسیار بزرگ بوده و فقط نیاز به سانتریفیوژ در دور های خیلی پایین داشته و سریعا می توان از آن محلول رسوب گرفت. لذا در اینصورت نیز می توان با استفاده از سیستم اسپین مینی فیوژ رسوب را به اسانی در ته تیوب تشکیل داد. بخش ورتکس دستگاه مینی فیوژ به انحلال ذرات قابل حل درون یک محلول داخل تیوب کمک می کند. برخی اوقات جهت تسریع انحلال ماده حل پذیر، ته تیوب در بخش ورتکس قرار گرفته و باعث هم خوردن محلول و حل شدن ترکیب درون حلال می شود.

pH متر: pH متر وسیله ای است که توسط آن میزان pH یک محلول اندازه گیری می شود. میزان pH نشان دهنده اسیدی یا بازی بودن یک ترکیب است. بازه‌ی pHدر محلول آب بین ۰ الی ۱۴ می باشد که این بازه به دلیل خاصیت آب بوده و در دمای ۲۵ درجه تعریف می شود. بازه‌ی بین ۰ الی ۷ اسیدی، pH 7 خنثی و بازه‌ی بین ۷ الی ۱۴ بازی می باشد. دستگاه pH متر میزان پروتون های آزاد شده در محیط را می سنجد که هرچقدر H^+ بیشتری در محیط باشد، محیط اسیدی تر خواهد بود. دستگاه pH متر هر چند وقت یکبار باید توسط بافر های مخصوص کالیبره شود تا دقت عملکرد آن کاهش پیدا نکند. دیدگاه های مختلفی در رابطه با اسید و باز ها وجود دارند. آرنیوس اشاره داشته که اسید ترکیبی است که درون حلال از خود پروتون آزاد تولید کند و باز ترکیبی است که درون حلال از خود هیدروکسیل آزاد رها کند. این نوع دیدگاه تنها در صورتی درست است که حلال فقط آب باشد. اما دیدگاه علمی تری توسط لوری- برونستد ارائه شده که بیان می کند اسید ترکیبی است که بتواند از خود در محیط پروتون آزاد کرده و به مولکول دیگر بدهد همچنین باز ترکیبی است که بتواند پروتون از محیط و از ترکیبات دیگر بپذیرد. امروزه دستگاه های pH متر علاوه بر سنجش میزان pH میزان رسانایی محلول و دما را می سنجند. همچنین بسته به نیاز دستگاه های pH متر می توانند قابلیت های دیگری برای سنجش شاخصه های مختلف یک محلول داشته باشند.

میکروسکوپ نوری مرکب: میکروسکوپ نوری یا ریزنمای نوری یکی از انواع میکروسکوپ است که از نور مرئی و سیستمی متشکل از چند لنز برای بزرگنمایی اجسام، موجودات و ساختار موادی که با چشم غیر مسلح قابل بررسی نیستند، کاربرد دارد. میکروسکوپ‌های نوری انواع مختلفی دارند که از انواع ساده تا میکروسکوپ‌های بسیار پیچیده برای وضوح بالاتر استفاده می‌شوند. ساختمان اصلی میکروسکوپ نوری شامل عدسی چشمی و عدسی شیئ، دسته یا بدنه صفحه چرخان و صفحه میکروسکوپ می باشد. در مقایسه با میکروسکوپ های ساده، میکروسکوپ‌های نوری مرکب توانایی اتصال چندین لنز را به صورت همزمان دارند و همین ویژگی این قابلیت را به آنها می‌دهد که اجسام را تا ۲۰۰۰ برابر بیشتر از اندازه واقعیشان بزرگنمایی کنند. وضوح تصویر و تفکیک پذیری این ابزار در حدود ۰,۲ میکرومتر است. از این نوع میکروسکوپ‌ها در دانشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی استفاده می‌شود.



میکروسکوپ معکوس (***Inverted Microscopy***): همانطور که از نام این دستگاه پیداست، میکروسکوپ اینورت در مقایسه با میکروسکوپ معمولی به صورت وارونه است، به طوری که در این میکروسکوپ منبع نوری و متمرکز کننده ی آن بالای صفحه استیج و رو به پایین و عدسی شیئی به طرف بالا قرار دارد. البته این تنها مورد تفاوت بین میکروسکوپ های آپ رایت و اینورت نیست، بلکه مشخصات عدسی های شیئی در میکروسکوپ های اینورت هم متفاوت است. بعنوان مثال عمق نفوذ یا به عبارتی فاصله کانونی که تصویر در آن تشکیل می شود در میکروسکوپ های اینورت بیشتر است. این مهم باعث می شود تا شعاع نور حاصل از نمونه بتواند از جداره ضخیم پتری دیش یا فلاسک نمونه قابل رویت باشد و تصویر در فاصله کانونی تشکیل شود. صفحه قرارگیری نمونه در میکروسکوپ معکوس همیشه ثابت است و عدسی‌های شیئی در میکروسکوپ با استفاده از پیچ‌های تنظیم کننده ماکرو و میکرو بر روی نمونه فوکوس می‌کنند. البته به صورت آپشن قابلیت اضافه کردن هولدر نمونه و حرکت دادن آن در محور های افقی وجود دارد. با حرکت پیچ‌های ماکرو و میکرو، عدسی‌ها بر روی محور عمودی میکروسکوپ بالا و پایین می‌روند تا تصویر واضحی از نمونه به دست آید. با توجه به اندازه میکروسکوپ بین ۴ تا ۶ عدد عدسی شیئی در این میکروسکوپ مورد استفاده قرار می‌گیرد.

کاربردهای میکروسکوپ اینورت: استفاده از میکروسکوپ اینورت یک تکنیک بسیار محبوب برای تصویربرداری از سلول‌ها و ارگانیسم‌های زنده است. با استفاده از این میکروسکوپ می‌توان سلول‌های زنده را از زیر یک فلاسک کشت سلول مشاهده کرد. بر خلاف میکروسکوپ‌های معمولی که نمونه‌ها بین یک پوشش و یک اسلاید فشرده می‌شوند در میکروسکوپ اینورت سلول‌ها داخل محیط کشت و در شرایط طبیعی و استریل مورد تصویر برداری قرار می‌گیرند.

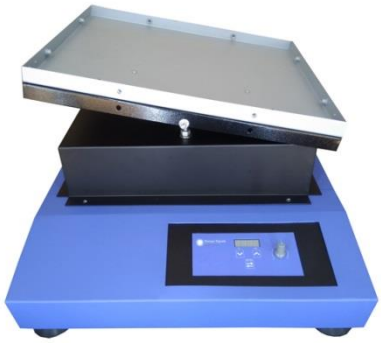
لام هموسیتومتر: لام هموسیتومتر توسط Louis-Charles Malassez اختراع شد و شامل یک اسلاید شیشه ای ضخیم برای بررسی میکروسکوپی با یک تورفتگی مستطیل شکل است که یک محفظه ای با حجمی دقیق ایجاد می کند. ساختار این دستگاه بسیار دقیق است تا محدود مشخص شده برای شمارش، دقت و عمق کافی را ایجاد کند. بنابراین با شمارش سلول ها در خانه های شبکه بندی شده، می توان تعداد سلول ها یا ذرات موجود در یک حجم خاص از مایع را به دست آورد و بدین ترتیب غلظت سلول ها در مایع را به طور کلی محاسبه کرد. یکی از لام های خوب هموسیتومتر، لام نئوبار است.

کاربرد های لام هموسیتومتر:

- شمارش سلول های خونی: برای بیمارانی با سلول های غیر طبیعی خون، در مورد این سلول ها، شمارنده های خودکار نمی توانند به خوبی عمل کنند.
- شمارش تعداد اسپرم ها
- در کشت سلولی: شمارش سلول ها در کشت یا ثبت میزان رشد سلول ها در طول زمان
- در بسیاری از آزمایشات مانند فلوسیتومتریبه تعداد دقیق سلول نیاز است.
- اندازه گیری اندازه سلول: در یک میکروگراف ، اندازه سلول واقعی را می توان با مقیاس گذاری آن به عرض یک مربع هموسیتومتر، که شناخته شده است، تعیین کرد.

هات پلیت مگنت دار(***Magnetic Hot Plate***): هات پلیت مگنت دار برای آزمایش‌های گوناگون دما و سرعت چرخش به صورت مستقل قابل تنظیم می‌باشد. هات پلیت استیرر یک ابزار آزمایشگاهی کوچک رو میزی است که از بیشتر از دو المنت حرارتی الکتریکی یا مشعل گازی ساخته شده است. به منظور مخلوط نمودن مایعات از مگنت داخل ظرف و بدون ارتباط مکانیکی استفاده می‌شود. شکل و اندازه مگنت وابسته به سرعت چرخش و مایع داخل می‌باشد. انرژی بهینه و سرعت دلخواه کاربر توسط برد الکترونیکی تامین شده و دمای صفحه حرارت دهنده با ترموستات قیاسی دارای حباب حسگر، دائما کنترل می‌شود. همانند یک اجاق رومیزی، هات پلیت مگنت دار دارای یک یا بیشتر از یک شعله هستند که به منظور گرم کردن مایعات یا جامدات استفاده می شود تا از این امر مطمئن شد که دمای مواد در یک سطح خاص حفظ می شود. اکثر هات پلیت مگنت دار ها دارای یک طیف دمایی قابل تنظیم هستند، و بعضی دارای تایمر می باشند که منبع حرارتی را بعد از مقدار مشخصی از زمان خاموش میکند بعضی دارای چندین شعله می باشند، تا به کاربر اجازه داده شود محلول های مختلف را تحت شرایط یکسان تست کند .

شیکر معمولی و شیکر الاکلنگی: شیکر یکی از ابزاری است که برخی اوقات به تنهایی و برخی اوقات به عنوان یک آپشن در کنار برخی دستگاه های دیگر عرضه می شود. وظیفه شیکر ها تکان دادن محلول های مختلف می باشد. به شکل کلی وظیفه یک شیکر رساندن همگن یک فاکتور به نواحی مختلف یک جسم مورد نظر می باشد.



آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری دو نوع شیکر معمولی و شیکر الاکلنگی داشته و این شیکر ها جهت رنگ آمیزی ژل های مختلف مورد استفاده قرار می گیرد. ژل یک ترکیب جامد است که برای رنگ آمیزی نیاز دارد فاکتور های مختلف مورد نظر به شکل همگن به همه جای آن برسد و نفوذ کند. لذا شیکر با تکان دادن محلول این عمل را به خوبی انجام می دهد. امروزه شیکر ها مجهز به سیستم تنظیم دور و سرعت و همچنین تایمر می باشند. یعنی با تنظیم دور و سرعت آن می توان مشخص کرد شیکر با چه دور و سرعتی بچرخد. همچنین سیستم تایمر آن زمان مورد نیاز برای چرخش را مشخص می کند.

اتوکلاو (***Autoclave***): یکی از مهم ترین مسائل مطرح در تمامی آزمایشگاه ها مخصوصا آزمایشگاه های زیست شناسی استریلیزاسیون می باشد. چرا که در انجام آزمایش های مختلف، عاری بودن مواد و وسایل از هرگونه آلودگی امری بسیار حیاتی می باشد. آلودگی ممکن است شیمیایی و یا میکروبی باشد. آلودگی های شیمیایی را می توان به سادگی با شست و شو توسط حلال مناسب آلودگی از بین برد. اما در رابطه با آلودگی های میکروبی یا به اصطلاح آلودگی های زیستی، از بین بردن آن ها (Decontamination) شرایط کمی فرق دارد. چرا که میکروب ها تمامی فضای کره زمین را پر کرده اند. هوایی که تنفس می کنیم مملو از عوامل مختلف میکروسکوپی می باشند که می توانند به سادگی موجب آلودگی و دخالت در آزمایش های مختلف پزشکی و زیست شناسی گردند. لذا حتی اگر با شست و شو جسمی

را عاری از هرگونه عوامل آلودگی کنیم در چند ثانیه ای که در معرض هوا قرار گرفته و یا تماس پوستی با آن ایجاد شود، آن جسم آلوده می گردد. همچنین در استفاده از مایعات در آزمایش های مختلف، امکان استریلیزاسیون آن ها توسط شست و شو وجود ندارد. دانشمند میکروبیولوژیست به نام چارلز چمبرلن در قرن ۱۹ میلادی دستگاهی را تحت عنوان اتوکلاو اختراع کرد که مشکل استریلیزاسیون را مرتفع کرد. دستگاه اتوکلاو که سیستمی همچون یک زودپز دارد با استفاده از دما و فشار بالای حاصل از بخار آب، به سادگی عمل سترون سازی را انجام می دهد. امروزه سیستم اتوکلاو در ابعاد و اندازه های مختلف بسته به کاربری مورد استفاده ساخته می شود. اتوکلاو با بخار کردن آب دما را به ۱۲۱ درجه سانتی گراد رسانده و فشار را عموما در ۱ اتمسفر تنظیم می کند. این دما و فشار حاصله مناسب برای از بین بردن تمامی آلودگی های زیستی می باشد. سیستم اتوکلاو همانطور که گفته شد سیستمی شبیه به زودپز داشته و پس از قرار دادن وسایل و مواد مورد نظر در آن، درب آن بسته شده و دستگاه شروع به کار می کند. عموما برای اطمینان از استریلیزاسیون کامل توسط اتوکلاو، از چسب مخصوص اتوکلاو (اندیکاتور) استفاده می شود. این چسب دارای نوار هایی تیره در زمینه چسب می باشد که هر یک از این نوار ها شامل تعداد زیادی از اسپور باکتری های مقاوم به دما می باشند. در هر سری اتوکلاو مقداری از چسب مخصوص نیز در دستگاه قرار می گیرد و در صورت انجام کامل استریلیزاسیون نوار های موجود بر روی چسب، تغییر رنگ داده و از بین می روند. همچنین سیستم اتوکلاو سعی بر آن دارد که پس از شروع کار هوای موجود در دستگاه را به شکل نسبتا کامل خارج نماید. چرا که هوا در امر استریلیزه کردن یک عامل منفی محسوب شده و زمان مورد نیاز را افزایش می دهد. باید توجه داشت که اتوکلاو تنها زمانی کاربرد دارد که از اجسام و نمونه هایی در آن گذاشته شوند که حساسیت دمایی نداشته باشند و بتوانند دما و فشار وارده را تحمل کنند. عموما اکثر وسایل آزمایشگاه های زیست شناسی دارای برچسبی هستند که نشان دهنده قابل اتوکلاو و یا غیر اتوکلاو بودن آنها می باشد. لذا اتوکلاو برای تمامی ابزار و مواد مورد استفاده در آزمایشگاه کاربرد ندارد. برای استریلیزاسیون مواردی که قابل اتوکلاو نیستند می توان بسته به شرایط و ماهیت مورد نظر، از فیلتر های مختلف، آون و ... استفاده کرد. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری دارای یک اتوکلاو از بهترین جنس و کیفیت بوده و سعی بر آن دارد تمامی مواد و وسایل مورد استفاده در آزمایش های مختلف را که قابلیت اتوکلاو شدن دارند، به این شیوه استریلیزه کند.

دستگاه آب مقطر گیری دو بار تقطیر: اصلی ترین حلال در دنیا، با ویژگی های فوق العاده و قابل دسترس ترین در نوع خود، آب می باشد. آب یا همان مایع حیات محیطی قطبی را تشکیل می دهد و تقریبا اکثر مولکول های قطبی را در خود حل می کند. واکنش های بیوشیمیایی موجودات زنده اکثرا در محیط آبی انجام می شوند و ویژگی های فوق العاده آب موجب گشته بستری مناسب برای شکل گیری حیات در جوار آن باشد. لذا آب و مخصوصا آب مقطر که عاری از آلودگی های یونی و سلولی است، برای انحلال بسیاری از ترکیبات و انجام بسیاری از واکنش ها در زیست شناسی مورد استفاده قرار می گیرد. دستگاه آب مقطر گیری دوبار تقطیر، طی دوبار تبخیر و میعان آب موجب تولید آب مقطر می شود. آب مقطر دوبار تقطیر تقریبا تمامی یون های خود را از دست داده است، چرا که مولکول های آب نسبت به اتم های یونی که درون خود حل کرده اند بسیار سبک تر هستند و دمای جوش بسیار پایین تری دارند. لذا با رساندن دما تا نزدیکی نقطه جوش، فقط آب بخار شده و طی میعان دوباره آب بدون یون بدست می آید. آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری دارای دستگاه آب مقطر گیری دوبار تقطیر با بهترین جنس و کیفیت است.

ست سوکسله (***Soxhlet Extractor***): سوکسله یکی از ابزارهای آزمایشگاهی است که توسط شیمیدان آلمانی فرانس فون سوکسله در سال ۱۸۷۹ میلادی اختراع شد. این وسیله آزمایشگاهی که معمولاً از شیشه ساخته می شود، برای جداسازی چربی ها(لیپیدها) از مواد جامد مورد استفاده قرار می‌گیرد. قسمت های مختلف دستگاه عبارتند از همزن مغناطیسی،بالن،مسیر تقطیر،انگشتانه، سیفون ورودی و خروجی، آداپتور واسط، کندانسور. این وسیله آزمایشگاهی که معمولاً از شیشه بروسیلیکات ساخته می شود و کاربرد اصلی آن برای جداسازی چربی ها(لیپیدها) از مواد جامد مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش در اصل برای استخراج چربی‌ها از مواد جامد طراحی شده بود با این حال استخراج سوکسله به استخراج چربی‌ها محدود نشده است. برای انجام سوکسیله نیاز هست که ترکیب مورد نظر حلالیت محدودی در یک حلال داشته باشد و نا خالصی‌ها در آن حلال نامحلول باشند.

کاربردهای ست سوکسله:

- برای تعیین درصد چربی در غذا ، علوفه ، دانه ها و بذر
- استخراج چربی در فاضلاب و لجن توسط این دستگاه انجام میشود.
- این دستگاه استخراج ترکیبات اصلی نیمه فرار مانند آفت کشها و علف کش را انجام می دهد.
- استخراج نرم کننده از پلاستیکها
- استخراج کلوفان از کاغذ توسط این محصول اجام می شود.
- همچنین استخراج روغن از چرم را انجام می دهد.

سونیکاتور ***(Sonicator)*** یا هموژنایزر التراسونیک ***(Ultrasonic Homogenizer)***: در گذشته برای همگن سازی در مصارف خانگی و حتی آزمایشگاهی از انواع هاون‌ها استفاده می شد. امروزه دستگاه‌های پیشرفته دیگری نیز در این زمینه به وجود آمده اند که سرعت، دقت و کارآمدی بالاتری دارند، که از جمله آن ها می توان به هموژنایزر التراسونیک یا همگن ساز فراصوتی اشاره کرد. کلمه Homogenous از دو واژه یونانی Homo به معنای یکسان و Genous به معنای نوع، تشکیل شده است. هموژناسیون فرآیندی برای تبدیل کردن دو مایع نامخلوط شدنی به یک امولسیون است. جهت ایجاد یک مخلوط یکنواخت، باید یکی از مواد تشکیل دهنده تا حد ممکن به کوچکترین ذرات تشکیل دهنده خود تبدیل شود تا قدرت انتشار یکنواخت را در ماده دوم که معمولا مایع است، کسب کند. اولتراسونیک (Ultrasonic) واژه‌ای مشتق از اولتراسوند (Ultrasound) است. اولتراسوند، صداهایی با فرکانس بالاتر از محدوده شنوایی انسان را شامل می شوند. سونیکاسیون (Sonication) استفاده از انرژی صوت برای تحریک ذرات درون یک نمونه است. در آزمایشگاه‌ها معمولا از حمام و یا پروب اولتراسونیک استفاده می‌کنند که در محاوره، به آن سونیکاتور اطلاق می‌شود. سونیکاتور ها دارای اثرات مختلف شیمیایی و فیزیکی هستند. اثرات شیمیایی اولتراسوندها به واسطه اثرات موج های اولتراسوند بر سیستم های شیمیایی به وقوع می پیوندد. در این دستگاه تبدیل یک جریان الکتریکی به یک ارتعاش مکانیکی سبب همگن شدن محلول می‌شود. این دستگاه با ایجاد امواج شدید فشاری در یک محیط مایع کار می‌کند، امواج فشاری باعث جریان در مایع شده و تحت شرایط مناسب موجب پدیده کاویتاسیون می‌شود. وقتی مایعات در معرض امواج فراصوتی قرار می‌گیرند، به علت ایجاد چرخه فشارهای بالا و پایین، مواد انتشار پیدا خواهند کرد. در طی چرخه‌های با فشار پایین، حباب‌های خلاء کوچکی در مایع ایجاد می‌شوند. وقتی این حباب‌ها به اندازه مشخصی برسند، در فشارهای بالا، با شدت بسیار به همدیگر ملحق خواهند شد. جریان ایجاد شده منجر به برخورد شدید ذرات شده که خود در نهایت به انتشار ذرات منتهی خواهد شد، انفجار حباب‌ها تولید موج ضربه‌ای با انرژی کافی برای شکستن پیوند کووالانسی می‌کند.

از نیروی برشی حاصل از انفجار حباب و همچنین جریان‌های اغتشاشی ناشی از ارتعاش صوتی برای همگن‌سازی و تخریب سلول استفاده می‌شود. در این دستگاه تبدیل یک جریان الکتریکی به یک ارتعاش مکانیکی سبب همگن شدن محلول می‌شود. سونیکاسیون برای تولید نانو ذراتی مانند نانو کریستال ها، لیپوزوم‌ها، عصاره‌گیری روغن‌های گیاهی، عصاره‌گیری از آنتی اکسیدان‌ها، تولید سوخت‌های زیستی، دسولفوره کردن روغن‌های خام، نانوکامپوزیت‌ها، آفت‌کش ها، سوخت‌ها و کاربردهای دیگر در صنایع مورد استفاده قرار می‌گیرد. در زیست شناسی می‌توان با استفاده از سونیکاسیون مواد زیستی را غیر فعال کنند. به عنوان مثال، سونیکاسیون برای شکستن غشاهای سلولی و آزاد کردن محتویات سلولی استفاده می شود که به آن Sonoporation نیز می گویند. سونیکاسیون برای شکستن DNA به قطعات کوچک نیز استفاده می شود. استفاده از هموژنایزر التراسونیک روشی کارآمد در کاهش اندازه ذرات سخت و نرم است. یکی از فواید اصلی این دستگاه، تعداد پایین قطعات و بخش های متحرک و مرطوب است. این موضوع فرسایش و اصطکاک دستگاه را کم کرده و از طرفی مدت زمان تمیز کردن دستگاه را نیز کاهش خواهد داد.

دستگاه تقطیر آزمایشگاهی: این دستگاه از تجهیزات آزمایشگاهی مناسب جهت تقطیر و جدا کردن مواد شیمیایی با ویژگی فرار بودن، است. در واقع دستگاه تقطیر آزمایشگاهی برای تبدیل مواد، از حالت گاز (بخار) به مایع بکار برده می شود. دستگاه تقطیر که عموما از جنس شیشه ساخته می شود دارای سه بخش اصلی بالن تقطیر، بالن جمع آوری و کندانسور می باشد و از این طریق عملیات تقطیر را انجام می دهد.

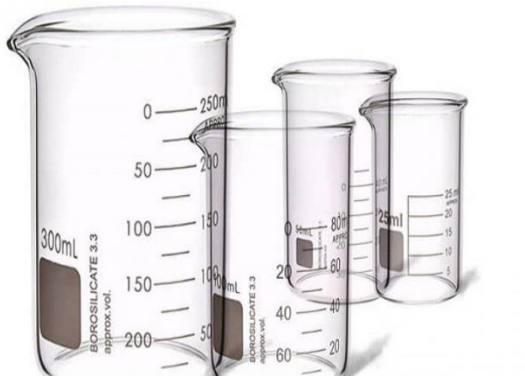
- بالن تقطیر: قسمتی از دستگاه تقطیر که دارای بخار و محلول می باشد.
- کندانسور (چگالنده): کندانسور نیز قسمتی از دستگاه تقطیر آزمایشگاهی می باشد که با آب سرد، بخار تولید شده را خنک می کند.
- بالن جمع آوری: بخشی از دستگاه که وظیفه آن جمع آوری قطرات سرد تولید شده می باشد.

برای انجام عملیات تقطیر در ابتدا لازم است تا محلول مورد نظر را درون بالن تقطیر بریزید. سپس بر اثر حرارت، محلول در دمای مشخص شده ثابت، جوش آمده و به بخار تبدیل می شود و در نهایت این بخار با عبور از کندانسور سرد شده و بصورت قطرات مایع درون بالن جمع آوری، ذخیره می شود. البته باید توجه شود که دستگاه تقطیر آزمایشگاهی بسته به دمای جوش هر محلول عمل می کند؛ به گونه ای که مایع با دمای جوش پایین تر برای بخار شدن به حرارت کمتر نیازمند است و سریع تر به بخار تبدیل می شود. دستگاه تقطیر برای جداسازی، خالص سازی و تصفیه مایعات و محلول هایی با دمای جوش متفاوت بکار می رود. این دستگاه در صنایع و فرآیندهای مختلفی کاربرد دارد :

- صنایع غذایی
- صنایع داروسازی
- صنایع شیمیایی (جهت تولید الکل، پارافین، گازوئیل و...)
- تولید آب مقطر
- گلاب گیری
- تصفیه آب شیرین از آب نمک

لوازم آزمایشگاه و تجهیزات ایمنی: اولین قانون در آزمایشگاه، حفظ ایمنی است. در برخی موارد، افراد با رعایت نکردن مسائل ایمنی، خود و اطرافیان را به خطر می‌اندازند. با تبعیت از دستورالعمل‌های ایمنی در آزمایشگاه می‌توان از بروز خطرات بسیاری جلوگیری کرد. استفاده از عینک ایمنی در آزمایشگاه‌ها الزامی است. عدم استفاده از عینک ایمنی سبب التهاب چشم‌ها و در مواردی نابینایی می‌شود چراکه به هنگام کار با اسید و انتقال آن به ظروف دیگر، ممکن است قطراتی از آن به چشم برخورد کند که نابینایی را به همراه خواهد داشت. در مواردی که احتمال کار با مواد خورنده آزمایشگاهی وجود دارد، استفاده از دستکش لاتکس توصیه می‌شود. همچنین استفاده از روپوش آزمایشگاه برای حفاظت در برابر پاشیده شدن مایعات اسیدی و بازی، از لوازم ضروری آزمایشگاه ها به شمار می‌رود. اگرچه پوشیدن کفش ایمنی ضروری نیست، اما باید از پوشیدن کفش‌های رو باز مانند صندل اجتناب کرد.

بشر(***Beaker***): معمول‌ترین ظرف بین لوازم آزمایشگاه است. برای مخلوط کردن، هم زدن و حرارت دادن مواد شیمیایی، از بشر استفاده می‌شود. برای سادگی انتقال مایعات، بشرها دارای لبه‌های خمیده هستند. اگرچه این وسیله برای اندازه‌گیری حجم بکار نمی‌روند اما به صورت مدرج و در اندازه‌های مختلف در آزمایشگاه‌ها وجود دارند. به دلیل لبه خمیده بشرها، این ظروف بدون درب هستند. برای جلوگیری از آلودگی مواد داخل آنها یا پاشیده شدن، از شیشه ساعت به عنوان درب این ظروف استفاده می‌شود.



ارلن (***Erlenmeyer Flask***): در نام‌گذاری ارلن از ارلن مایر نام مخترع آن بهره گرفته‌اند. این ظرف دارای دهانه‌ای باریک است که خطر پاشیده شدن قطرات مایع را به هنگام هم زدن یا تکان دادن کاهش می‌دهد. ارلن به سادگی به پایه متصل می‌شود و می‌توان از آن برای گرم کردن و تکان دادن محلول‌ها استفاده کرد. ارلن مدرج برای برداشتن حجم مشخصی از مایعات کاربرد دارد. البته همانطور که در خصوص بشر مطرح شد، ارلن مدرج نیز روش دقیقی برای سنجش حجمی نیست و حجم را به طور حدودی مشخص می‌کند. ذکر این نکته ضروری است که اگر روی ارلن در پوشی قرار دادید، به هیچ عنوان آن را حرارت ندهید، چراکه سبب افزایش فشار و در نهایت خرد شدن ظرف می‌شود.

لوله آزمایش (***Test Tube***): لوله آزمایش، لوله‌ای شیشه‌ای با انتهای گرد برای نگهداری نمونه با حجم کم است. از لوله آزمایش برای بررسی‌های کیفی نمونه‌ها و مقایسه آنها استفاده می‌شود. این لوازم آزمایشگاه، بیشتر در آزمایشگاه‌های بیوشیمی به چشم می‌خورد چراکه در آن‌ها، مقایسه و بررسی تعداد زیادی از نمونه‌ها انجام

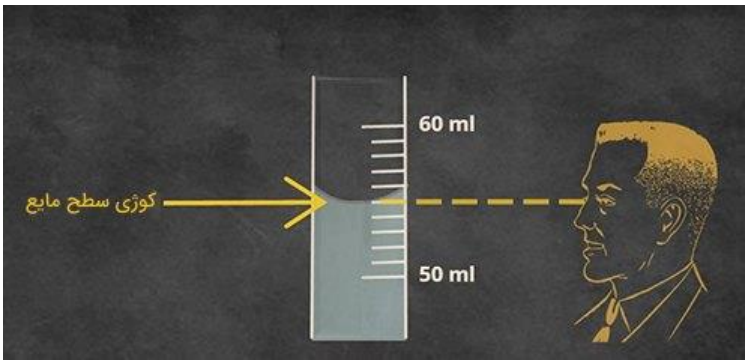
می‌گیرد. لوله‌های آزمایش به سادگی با استفاده از درپوش‌های لاستیکی مهر و موم می‌شوند. به طور معمول، برای نگهداری این نوع از لوازم آزمایشگاه، از قفسه‌های مخصوص استفاده می‌شود. در مواردی که لمس لوله های آزمایشگاهی خطرناک است، برای جابجایی آنها از انبرک های مخصوص این کار بهره می‌گیرند.

شیشه ساعت(***Watch Glasses***): شیشه ساعت ابزارهای شیشه‌ای لنز مانندی هستند که برای نگهداری مقادیر بسیار کمی از مواد جامد و مایع بکار می‌روند. در آزمایش‌هایی که با تبخیر همراه است به عنوان درپوش ظروف استفاده می‌شود.

قیف (***Funnel***): قیف در آزمایشگاه، همانند بسیاری از قیف‌های دیگر است با این تفاوت که به منظور کار با لوازم آزمایشگاه تولید شده است. قیف‌ها برای انتقال سریع مایعات به ظروف مختف کاربرد دارند. قیف‌های آزمایشگاهی در شکل‌های لوله بلند و لوله کوتاه تولید و به صورت پلاستیکی یا شیشه‌ای عرضه می‌شوند. این قیف‌ها بر اساس نوع مایعی که در آن‌ها ریخته می‌شود، در اندازه‌های مختلف خریداری می‌شوند.

استوانه مدرج (***Graduated Cylinder***): ابزار اصلی سنجش حجم مایعات در لوازم آزمایشگاه شیمی، استوانه مدرج است. این وسایل در اندازه‌های مختلف تولید و عرضه می‌شوند. هرقدر قطر استوانه‌ها کمتر باشد، به منظور سنجش حجمی دقیق‌تری مورد استفاده قرار می‌گیرند. مایعات در انتهای استوانه مدرج (مِزور) دارای کمی انحنا هستند که به هنگام خوانش مقدار سنجش حجمی، این مورد مشهود است و به آن کوژی سطح مایع (Meniscus) می‌گویند.

توصیه‌هایی برای سنجش حجمی با لوازم آزمایشگاه: استوانه مدرج یا دیگر لوازم آزمایشگاه که برای سنجش مایعات استفاده می‌کنید را در یک سطح صاف و همتراز با چشم خود قرار دهید. مایع درون استوانه مدرج شکلی هلال مانند به خود می‌گیرد که در مرکز، ارتفاع آن کمتر و در دیواره‌های استوانه بیشتر است. برای قرائت صحیح، پایین‌ترین ارتفاع را به عنوان محل سنجش قرار دهید.



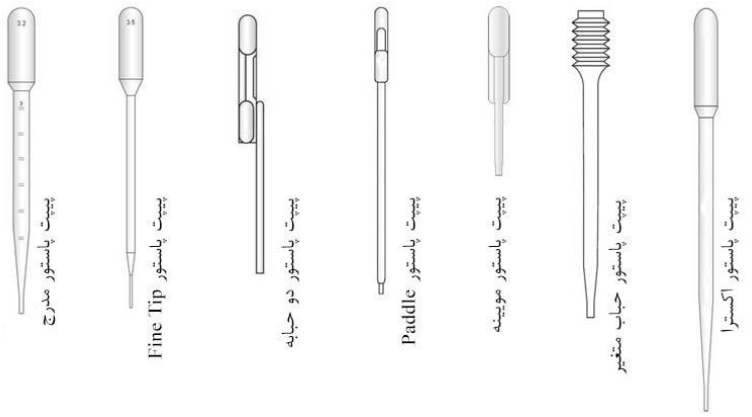
بالن حجمی (***Volumetric Flask***): بالون حجمی یک بالن ته صاف با دهانه بلند است. از این بالن‌ها برای سنجش دقیق میزان حجم یک مایع استفاده می‌شود. این بالون‌ها در دهانه خود دارای یک خط نشان هستند که میزان مورد نیاز مایع برای رسیدن به حجم آن بالون را نشان می‌دهد. برای سنجش دقیق حجمی، باید نکاتی که در خصوص استوانه مدرج ذکر شد مد نظر قرار بگیرند، یعنی پایین‌ترین سطح مایع در خط نشان به عنوان مرجع سنجش در نظر گرفته شود. بالون ژوژه نام دیگری است که برای این دسته از لوازم آزمایشگاه استفاده می‌شود.

بالن ته گرد (***Round Bottom Flask***): از بالون ته‌گرد برای حرارت دادن، تقطیر و نگهداری مایعات استفاده می‌شود. گرد بودن انتهای این بالون‌ها عاملی است تا مایع در داخل آن به طور یکنواخت حرارت ببیند. به همین دلیل از بالون‌های ته‌گرد برای فرآیندهای حرارتی مثل تقطیر بیشتر استفاده می‌شود. همچنین این شکل از بالون‌ها مقاومت بیشتری در مقابل شکستن تحت شرایط خلا دارند.

قطره چکان (***Dropper***): قطره چکان شامل یک لوله شیشه‌ای باریک است که در بالای آن حبابی لاستیکی قرار دارد. این حباب وظیفه مکش مایعات به داخل لوله قطره چکان را بر عهده دارد. همچنین بوسیله آن می‌توان مایعات را کم کم به محلول‌ها اضافه کرد. قطره چکان در آزمایش‌های تیتراسیون، بسیار پر کاربرد است.

پیپت پاستور: از پیپت ها برای اندازه‌گیری دقیق حجم یک مایع و انتقال آن به ظرف دیگر استفاده می‌شود. پیپت‌ها انواع مختلفی دارند. پیپت مدرج و پیپت حبابدار، دو نوع پرکاربرد از این لوازم آزمایشگاهی هستند. **انواع دیگر آن عبارتند از:**

- میکرو پیپت جابجایی هوا (Air Displacement Micropipettes)
- پیپت الکترونیکی (Electronic Pipette)
- پیپت جابجایی مثبت (Positive Displacement Pipette)
- پیپت پاستور(Pasteur Pipette)
- پیپت ون اسلیک (Van Slyke Pipette)
- میکروپیپت شیشه‌ای (Glass Micropipette)



لازم به ذکر است که برای پر کردن پیپت از پوآر یا پیپت پر کن (Pipette Filler) استفاده می‌شود.

بورت: بورت یک لوله شیشه‌ای و از بالا بسته است. بورت‌ها در پایین خود دارای یک شیر کنترل هستند تا میزان مایعات آزاد شده از پایین قابل کنترل باشد. بورت‌ها به طور معمول در آزمایشگاه به همراه پایه و گیره مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای سنجش میزان حجم اضافه شده از یک بورت، باید مقدار اولیه در آن و مقدار نهایی را در محلی یادداشت و در انتها از یکدیگر کسر کنید. برای خوانش دقیق هم مانند موارد بالا، از پایین‌ترین سطح مایع در لوله استفاده کنید.

پایه و گیره (***Stand and Clamps***): از پایه برای نگهداشتن بورت، بشر، بالون‌ها، بوته چینی و ... در بالای ظروف یا بالای چراغ بونزن استفاده می‌شود. همواره سعی کنید که لوازم آزمایشگاه را به خوبی به پایه متصل کنید. در اتصال ابزار شیشه‌ای مراقب شکستن آنها باشید و گیره را در اطراف آنها زیاد سفت نکنید. برای استفاده از

حلقه متصل به پایه، ابزارهای دیگری نیز مورد نیاز هستند. به طور مثال توری فلزی در اطرف حلقه سبب توزیع یکنواخت حرارت در دیواره‌های بشر می‌شود. در نهایت سعی کنید که تمامی ابزارهای متصل به هم، تراز باشند.

اسپاتول: از اسپاتول (قاشقک)، برای برداشتن مواد شیمیایی از ظروف خود استفاده می‌شود.

دماسنج (***Laboratory Thermometer***): دماسنج آزمایشگاهی برای سنجش دمای مایعات بکار می‌رود. این دماسنج‌ها می‌توانند به صورت شیشه‌ای یا از ترموکوپل ساخته شده باشند.

چراغ بونزن (***Bunsen Burner***): چراغ بونزن، دستگاهی مکانیکی برای ایجاد شعله است. برای این منظور معمولا یک شلنگ گاز از کپسول به چراغ بونزن وصل می‌شود. چراغ بونزن شامل دو شیر تنظیم هوا و گاز است که برای کنترل شعله، این دو شیر باید به میزان مناسب تنظیم شوند. برای روشن کردن این وسیله باید از فندک یا کبریت استفاده کرد.

پیست (***Wash Bottle***): از پیسِت یا آبفشان برای شستشوی لوازم آزمایشگاهی همچون لوله های آزمایش و بالون‌های ته‌گرد استفاده می‌شود. عملکرد این بالون‌ها به صورت فشاری است، یعنی بعد از پرکردن آن‌ها، با فشار دادن بطری، از لوله متصل به آن، مایع با فشار خارج می‌شود که برای شستشوی ظروف بکار رود. از پیست در مواردی برای انتقال مایعات نیز بهره می‌گیرند. کدهای رنگی مختلفی برای نشان دادن نوع مایع داخل پیست مورد استفاده قرار می‌گیرد. به طور مثال رنگ قرمز برای استون، سفید برای اتانول یا سدیم هیپوکلریت$NaClO$، سبز برای متانول، زرد برای ایزو-پروپانول$(CH3CHOHCH3)$ و آبی برای آب مقطر استفاده می‌شود.

لازم به ذکر است که لوازم آزمایشگاه جامع تحقیقات و فناوری شامل اقلامی بیش از موارد ذکر شده در بالا است اما لوازم اصلی و ضروری در هر آزمایشگاه در این مطلب معرفی شده است.