

تهیه کشت سلول چغندر قند در محیط غذایی مایع

پیمان نوروزی، سید یعقوب صادقیان، نسرین یآوری

چکیده:

به منظور تهیه کشت سوسپانسیون سلولی و ارزیابی بعضی از خصوصیات آن، نیاز به کانوسی شکننده است. تانسولویا و دستجات کوچک سلولی بتوانند در محیط کشت مایع با حرکت ملایم روی دستگاه شیکر براحتی آزاد گردند. برای این کار از کالوس های واکشت شده حاصل از بافت هیپوکوتیل مربوط به دورقم مولتی ژرم و منوژرم استفاده گردید. بدین ترتیب که یک گرم از قطعات سفید و شکننده کالوس در ۶۰ میلی لیتر محیط مایع MS یا PGOB به همراه یک میلی گرم در لیتر توفوردی +۰/۵ میلی گرم در لیتر کینتین +۲۵۰ میلی گرم در لیتر کانازین هیدرولیزات در داخل ظروف ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری وارد شد. این کشت بر روی شیکر دورانی در ۹۰ دور در دقیقه و دمای ۲۷+۲ درجه سانتیگراد قرار گرفته و هر ۷ روز با اضافه نمودن ۳۰ میلی لیتر سوسپانسیون سلولی به ۳۰ میلی لیتر محیط کشت تازه عمل واکشت سلولی انجام گردید (لازم به ذکر است که در اولین واکشت از صافی استریل با منافذ ۲۹۰ میکرومتری استفاده شد). در مرحله ای از کشت سوسپانسیون، وضعیت ظاهری سلولها مشاهده و قدرت زیست و تراکم سلولی آنها تعیین گردید. سلولها از نظر وضعیت ظاهری، به اشکال مختلفی مانند کروی، دمبلی شکل، دراز و کشیده دیده شدند. برای تعیین قدرت زیست سلولهای سوسپانسیون از رنگ قرمز خنثی (Neutral red) با غلظت ۰/۱ میلی گرم در یک میلی لیتر محیط کشت سلولی استفاده گردید.

با قرار دادن یک قطره از مخلوط حاصل بر روی لام و مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری مشخص گردید که سلولهای دارای قدرت زیست و سالم، رنگ قرمز خنثی را در واکنش خود جذب نموده، ولی سلولهای غیرزنده، این رنگ را در سرتاسر حجم خود پخش نمودند و رنگ قرمز تیره داشتند.