

## آماده سازی لام نئوبار برای شمارش سلول

برای شمارش سلول ها ابتدا باید سلول های چسبیده را مانند آنچه در پاساژ سلول انجام می شود، تیپریپسینه کنید که این آموزش را میتوانید از آموزش کشت سلول مشاهده کنید . پس از سانتریفیوژ سلولها محیط رویی را دور ریخته و سلولها را در یک سی سی محیط کشت بطور کامل سوسپانسیون می کنید. لام نئوبار و لامل را با اتانل ۷۰ درصد تمیز کنید و لامل را روی لام نئوبار قرار دهید.

### لام نئوبار

لام نئوبار و لامل را با الکل ۷۰ درصد تمیز کنید

### لامل

لامل را روی لام قرار دهید.

پیشنهاد: خرید کیت استخراج DNA پویازن آزما

## آماده سازی نمونه برای شمارش سلول با هموسیتومتر

به اندازه حجم سلول یعنی یک سی سی تریپان بلو اضافه کنید (البته برای صرفه جویی میتوانید ۱۰ میکرولیتر از سلول ها را با ۱۰ میکرولیتر از تریپان بلو مخلوط کنید) . به خوبی بیپتاژ کنید تا سلول ها کامل در تریپان بلو سوسپانسیون شوند . سپس ۱۰ میکرولیتر از ترکیب را به دقت به زیر لاملی که روی لام نئوبار یا هموسیتومتر قرار دارد وارد کنید . (مانند کلیپ)

### تریپان بلو

نحوه وارد کرد سوسپانسیون سلولی به لام نئوبار

### نحوه شمارش سلول

سپس لام نئوبار را زیر میکرویکوپ قرار دهید . هر طرف لام از ۹ مربع بزرگ تشکیل شده که روش شمارش سلول ها داخل این مربع ها میتواند متفاوت باشد . ما به این صورت انجام می دهیم که ۴ مربع گوشه و یک مربع وسطی را می شماریم . تریپان بلو وارد سلول های مرده میشود . ما آنها را به رنگ آبی می بینیم اما سلول های زنده بصورت شفاف مشاهده می شوند .

### کشت سلول

سلول های زنده شفاف و سلول های مرده آبی هستند

حتما باید مربع ها را به ترتیب بشمارید تا فراموش نکنید کدام یک شمارش شده است . برای شمارش سلول هایی که روی ضلع های مربع قرار دارند یک قانون می گذاریم . زیرا فقط ضلع های بالا و سمت چپ را بشماریم ( اگر از مربع بالا سمت چپ شمارش را آغاز کردید) . شمارش سلول ها را به دقت انجام دهید . سلولهای شفاف را در دسته سلول های زنده و سلول های آبی در دسته سلول های مرده شمارش می شوند . همچنین در نظر داشته باشید که ذراتی که سیاه هستند و سلول نیستند را شمارش نکنید.

لام نئوبار

نحوه شمارش سلول های روی ضلع های مربع ها

محاسبه غلظت سلول

فرمول شمارش سلول با لام نئوبار

پس از اتمام شمارش به محاسبات می پردازیم . ابتدا می توانیم درصد سلول های زنده و رشد یافته را محاسبه کنیم :

فرمول محاسبه درصد سلول زنده

تعداد متوسط سلول ها در هر مربع هم به این صورت محاسبه می شود :

فرمول محاسبه میانگین سلولهای زنده در هر مربع

ضریب رقت نیز همیشه ۲ هست . به این دلیل که شما باید یک برابر حجم از سوسپانسیون سلول ، تریپان بلو اضافه کنید :

فرمول ضریب رقت

برای محاسبه غلظت سلول یعنی تعداد سلول ها در یک میلی لیتر باید تعداد متوسط سلول در هر مربع را در ضریب رقت و عکس حجم یک مربع ضرب کنید که حجم تمامی مربع های یکسان و برابر با ۴-۱۰ می باشد :

فرمول نهایی شمارش سلول با لام نئوبار

حالا شما می دانید که هر میلی لیتر از سوسپانسیون سلول چه تعداد سلول را شامل می شود . پس می تواند تعداد مشخص از سلول را درون هر چاهک از پلیت کشت دهید و تیمار مورد نیاز را انجام دهید .