

University of Isfahan
Biological Science and Technology
Department of Cell and Molecular Biology
Cellular and Molecular Laboratory
Farzaneh Forouharfar

عنوان

شناخت مفهوم رنگ آمیزی زیستی(vital staining)
و غیر زیستی(Non vital staining)

اهداف

مشاهده و بررسی واکوئل غذایی(Food vacuole) و

انقباضي(Contractil vacuole)

مشاهده و بررسی میتوکندری(mitochondria)

مشاهده و بررسی اندامک ها ی حرکتی مژه (cillia)و تاژه(flagella)

مشاهده و بررسی هسته(nucleus)

بررسی توانایی زیستی یا تراوايي غشاء پلاسمایی سلول زنده(viability)

مشاهده سیکلوسیس (cyclosis) یا جریان سیتوپلاسمی

مقدمه

رنگ‌آميزي زيستي

در اين نوع رنگ‌آميزي ضمن حفظ حيات نمونه يا سلول مورد نظر، اجزاء مورد مطالعه به صورت اختصاصي رنگ مي‌شوند. بديهي است كه در اين تكنيك رنگ آميزی،رنگ‌هاي حياتي بايستي با غلظت بسيار پايين و رعايت شرايط خاص از نظر نوع محلول سازنده، اسيديته و مولاريته ان تهيه شوند و مراحل انجام رنگ اميزي با دقت و رعايت موارد مختلف از قبيل ميزان رنگ مورد استفاده، مدت زمان رنگ اميزي و رعايت شرايط مناسب با حفظ حيات نمونه انجام پذيرد در غير اينصورت رنگ آميزي حياتي تبديل به رنگ آميزي غير حياتي مي گردد.

رنگ‌آميزي غيرزيستي

در رنگ‌آميزي غيرزيستي حيات نمونه از دست مي‌رود. اما اجزاء مورد مطالعه اختصاصاً رنگ مي‌گيرند و محلول سازنده يا نوع رنگ مورد استفاده براي سلول سمي و كشنده مي‌باشد.

A. VITAL STAINS

DEFINITION **The stains which are non toxic and do not kill the living cells are called vital stains**

Examples of vital stains are methylene blue and neutral red

B. NON VITAL STAINS

DEFINITION **"The stains which are toxic and Kill the living cells are called non vital stains".**

Examples of non vital stains, are borax carmine and saframine

Temporary stain

The stains which are temporary and can be removed with alcohol is called temporary stain.

Permanent stain

The stain which is permanent and cannot be removed with alcohol is called permanent stain.

Non toxic dyes

Helps in detection of cell structure and specific metabolic reactions within the cells

A **vital stain** is a stain that can be applied on living cells without killing them.

Vital stains have been useful for diagnostic and surgical techniques in a variety of medical specialties.

In **supravital** staining, living cells have been removed from an organism, whereas **intravital** staining is done by injecting or otherwise introducing the stain into the body.

They are capable of penetrating the cell membrane of living cells due to their lipophilic property

Examples

- Janus Green B
- Neutral Red
- Methylene Blue
- Trypan Blue

عوامل موثر بر رنگ آمیزی حیاتی

- ✓ غلظت ،pH و مولاريته محلول رنگي بايستي دقيق و متنايب با شرايط نمونه باشد.
- ✓ میزان رنگ مورد استفاده در طول رنگ آمیزی بقدر كافي باشد و بیش از حد ظرفیت سلول استفاده نشود.
- ✓ نوع محلول مورد استفاده جهت ساخت رنگ (اسیدی،الکلی،آبی،سرم فیزیولوژیکی و..) بدقت تهیه شود.
- ✓ مدت زمان رنگ آمیزی زیاد طول نکشد.
- ✓ در رابطه با تک یاخته ها نور بیش از حد میکروسکوپ باعث ایجاد حرارت و مرگ سلول مي شود و همچنین از الکل استفاده نگردد.
- ✓ در رنگ آمیزی زیستی با توجه به رعایت شرایط رنگ آمیزی،نمونه میکروسکوپی زنده می ماند و جزء یا قسمت مورد نظر به صورت اختصاصی رنگ می شود.

در این آزمایش برخی از اندامک های درون سلولی در تک یاخته هایي مثل پارامسي با استفاده از رنگ های حیاتی و غیر حیاتی به صورت اختصاصی رنگ می شوند.

پارامسی Paramecium

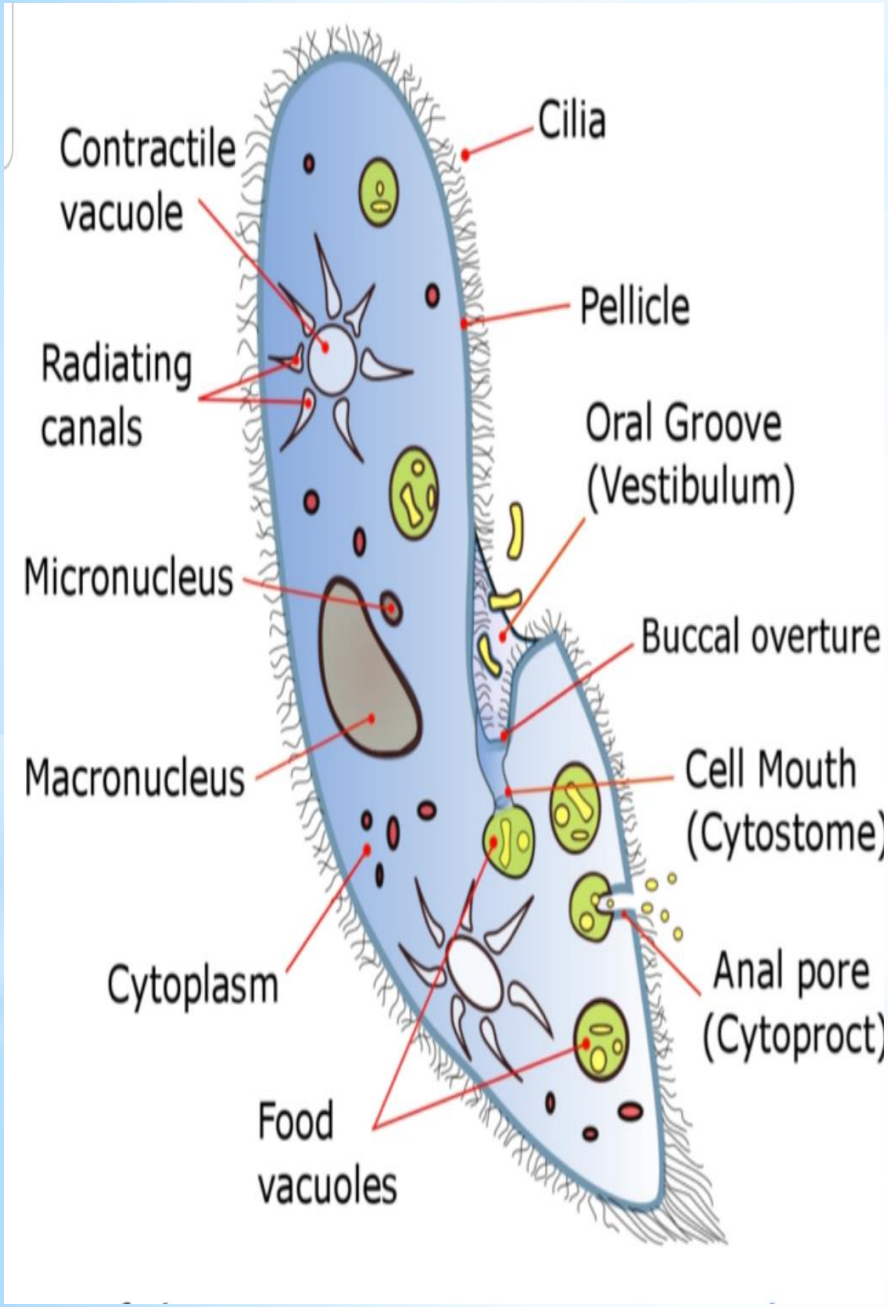
پارامسي ها،پروتوزوئر های تک سلولی ازشاخه مژکداران هستند که در آب های آرام و آبگیر های راکد زندگی میکنند و بخش اصلی زنجیره غذایی را تشکیل می دهند.آنها از پسماندهای جلبک ها و سایر موجودات ریزتغذیه کرده وخودشان توسط موجودات دیگر بلعیده می شوند.تمام اعضای شاخه مژکداران به وسیله اندام ریز مو مانندی که مژک نامیده می شود حرکت می کنند.حرکت پارامسی اینگونه است که اگر ضربان اندام حرکتي به سمت عقب باشد، حرکت به سمت جلو است و بالعکس. اگر ضربان به صورت مایل باشد ، جانور به دور خود می چرخد و در حال چرخش میتواند به جلو و عقب حرکت کند.
پارامسی قادر نیست شکل بدنش را مثل آمیبب ها تغییر دهد.زیرا که پوسته ضخیم و سختی به نام پلیکل دارند.پلیکل کل سطح غشای سلول را در برمیگیرد.

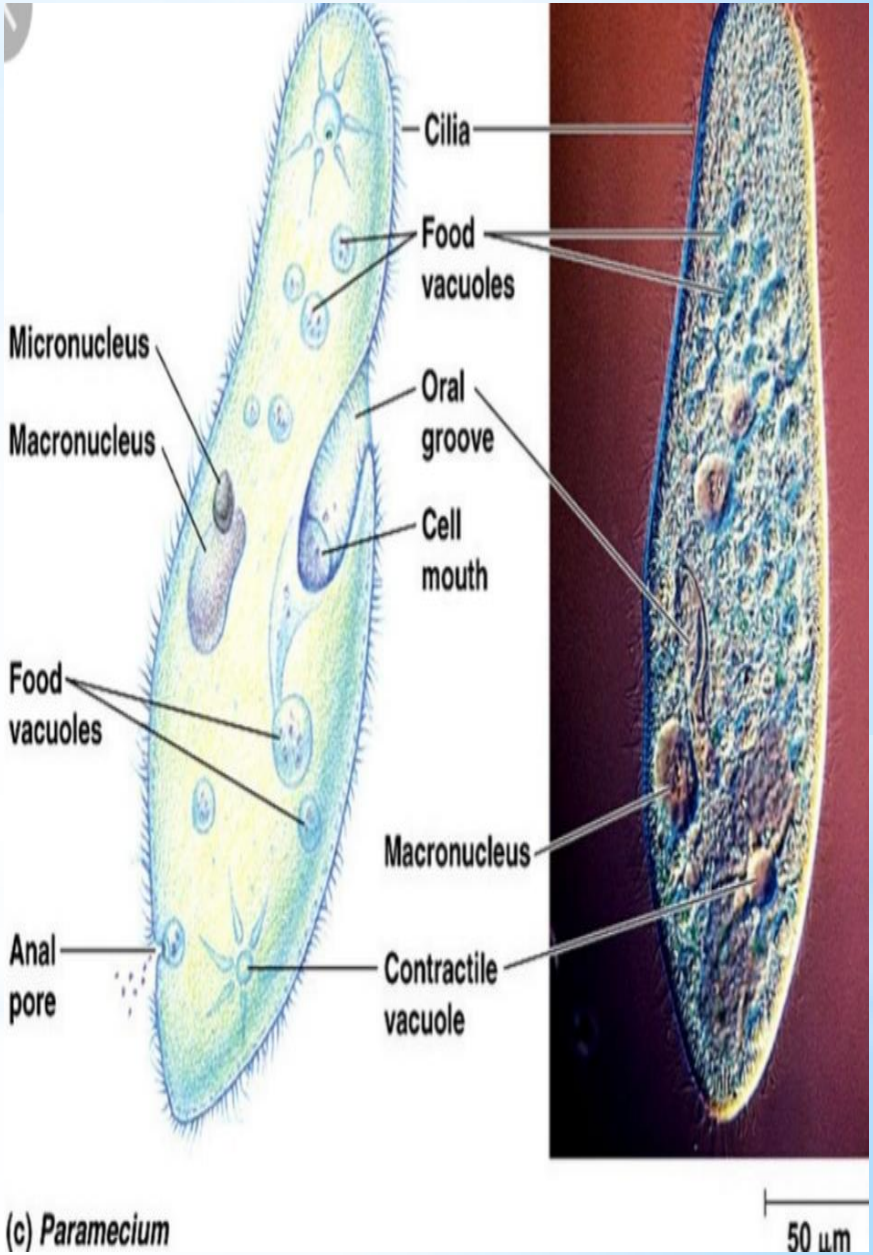
پارامسی دو نوع هسته دارد.

هسته بزرگ(ماکرونوکلئوس)که فعالیت هایی مثل تنفس،سنتز پروتئین و هضم غذا را کنترل میکند.

هسته کوچک(میکرونوکلئوس)تنها در زمان تولیدمثل فعالیت دارد.

تولیدمثل جنسی در پارامسی با تبادل DNA بین هسته های کوچک همراه است.در این زمان دو پارامسی از طول بهم می چسبند و هسته ها از طریق دهان سلولی به هم ملحق می شوند.به این تولیدمثل کانجوگیشن یاگشنگیری می گویند که نوعی تولیدمثل جنسی در میکروارگانیسم هاست.


Contractile vacuole
Cilia
Pellicle
Radiating canals
Oral Groove (Vestibulum)
Micronucleus
Buccal overture
Macronucleus
Cell Mouth (Cytostome)
Cytoplasm
Anal pore (Cytoproct)
Food vacuoles


Cilia
Food vacuoles
Micronucleus
Oral groove
Macronucleus
Cell mouth
Food vacuoles
Macronucleus
Anal pore
Contractile vacuole
(c) Paramecium
50 µm

شناسايي اندامک هاي درون سلولي با استفاده ازنـگ آميزي حياتي و غيرحياتي

واکوئل vacuole

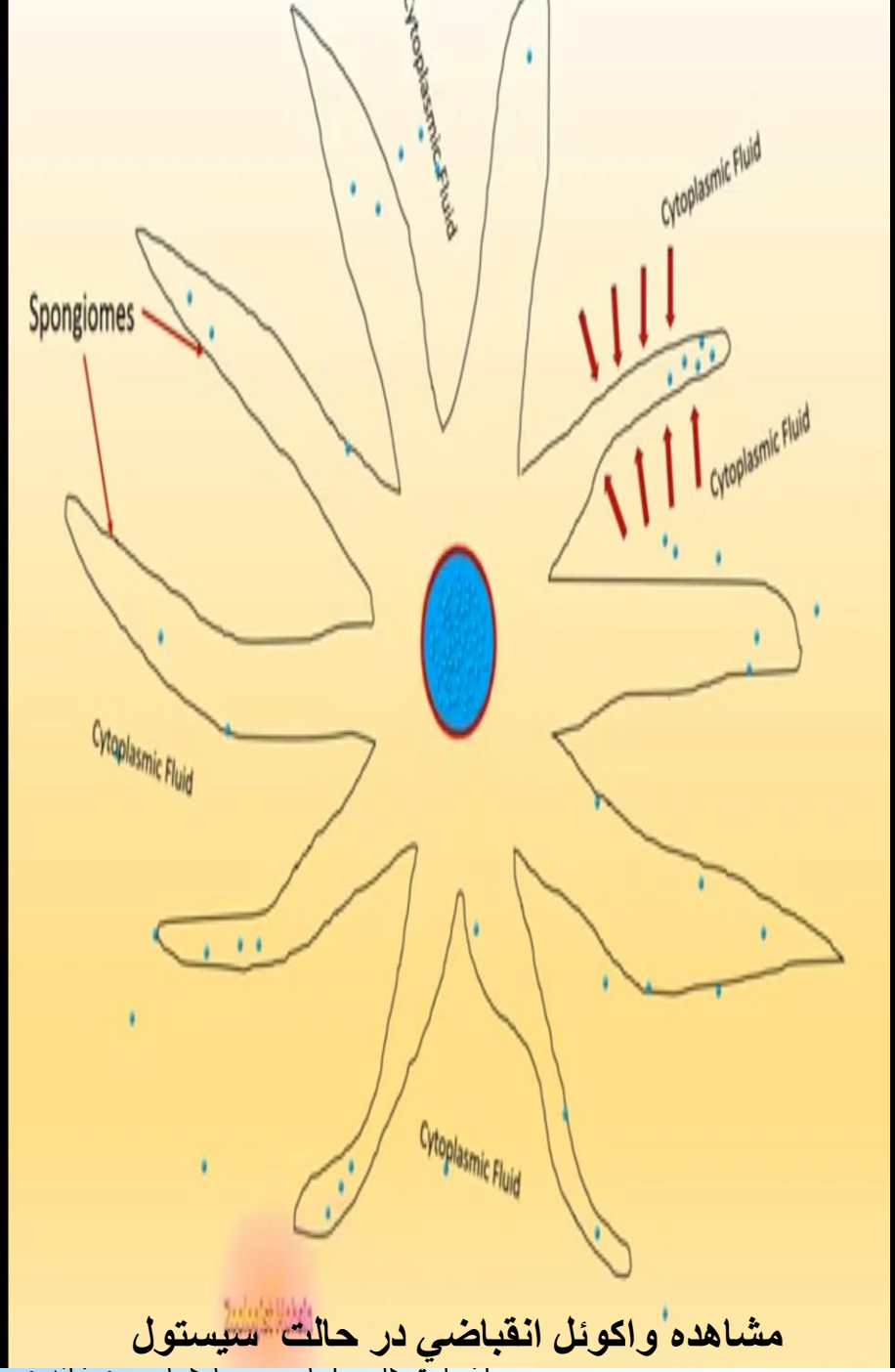
واکوئل‌ها در سلول دو نوع هستند يا انقباضي و مسئول تنظيم فشار اسمزي درون سلولي Contractil vacuole و يا غذايي ومحل تجمع ذرات غذايي می‌باشند Food vacuole

واکوئل‌هاي انقباضي رنگ نمي‌پذيرند و دو عدد به حالت گرد و مدور در دو طرف پيکر تک ياخته‌اي واقع شده‌اند.

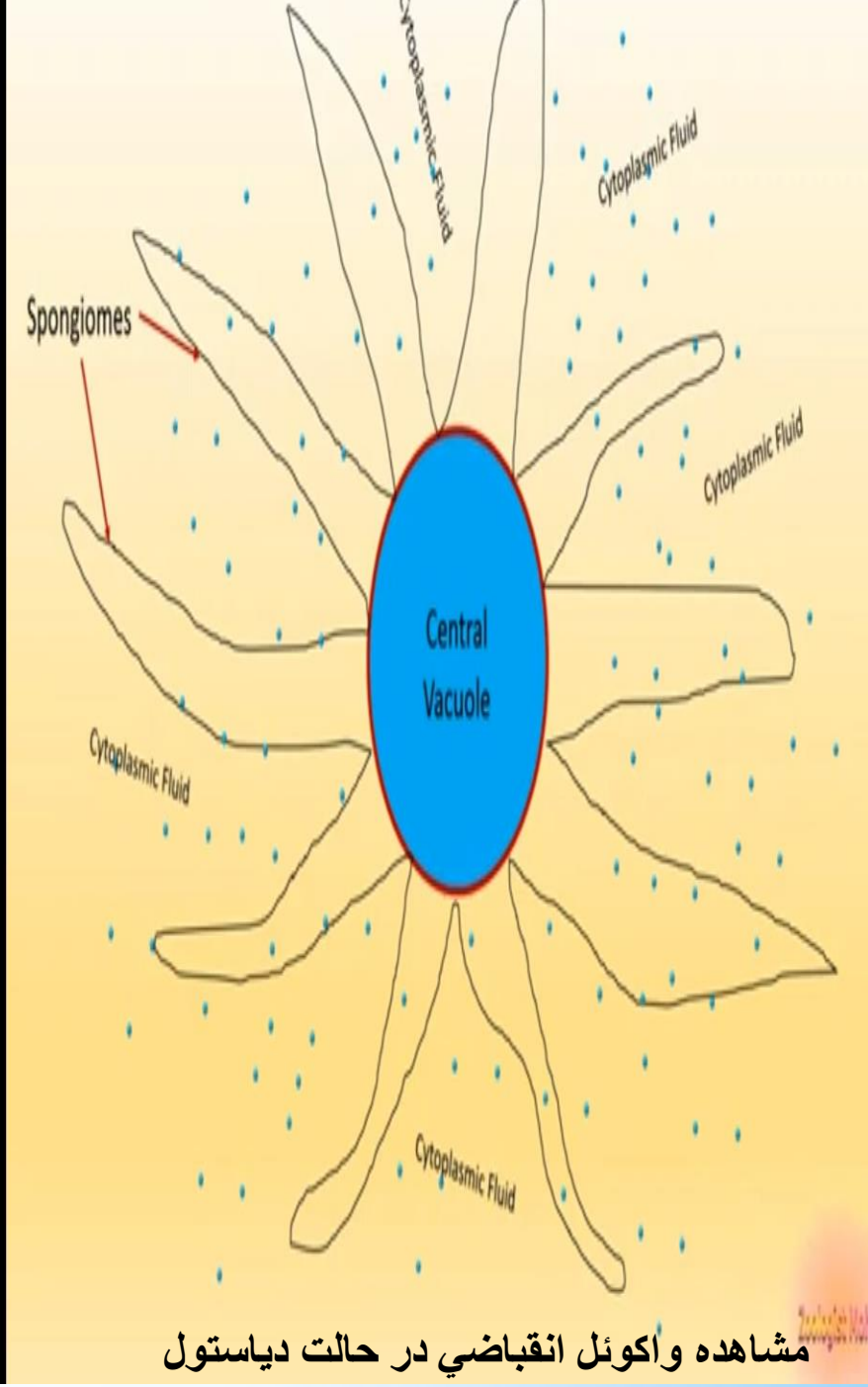




در پارامسی های آب شیرین که سیتوپلاسم آن‌ها نسبت به محیط اطراف از نظر اسمزی هایپر تونیک یا غلیظ‌تر می‌باشد در این شرایط اسمزی آب به داخل سلول جریان می‌یابد و پس‌از آن به داخل واکوئل انقباضی Contractil vacuol یا واکوئل ضربان دار که یک اندامک درون سلولی است منتقل می‌شود.
هر پارامسی دو عدد واکوئل انقباضی در دو قطب مخالف سلول خود دارد که متناوباً فعالیت می‌کنند.مرحله‌ای که آب به داخل واکوئل مرکزی جریان می‌یابد دیاستول و بیرون راندن آب اضافی و انقباض آن را سیستول می‌گویند. این دو مرحله در واکوئل‌های انقباضی ریتمیک و دوره‌ای است و زمان آن بستگی به تفاوت اسمولاریته بین محیط و سلول دارد.معمولاً زمان پر و شدن و پمپاژ آن حدود چند ثانیه طول می‌کشد و بدین ترتیب فشار اسمزی سلول پارامسی تنظیم و مانع از ترکیدن آن می شود به این عمل osmoregulation می گویند.
این اندامک با یک مکانیسم محافظتی از جذب بیش‌ازحد آب به داخل سلول و پارگی و ترکیدن تک یاخته به‌دلیل فشار بالای آب جلوگیری می‌کند. بدین ترتیب که ابتدا کانال‌های شعاعی ظریف اطراف واکوئل انقباضی آب را از سیتوپلاسم جذب کرده و پس از پر شدن به داخل واکوئل مرکزی انقباضی پمپاژ می‌کنند.مکانیسم این عمل بدلیل وجود و عملکرد پمپ‌های پروتون و NADPH و ATPase در غشاء می باشد و درنهایت آب اضافی از طریق منافذ موجود در غشاء سلولی دفع می‌شود.



مشاهده واکوئل انقباضي در حالت سیستول



مشاهده واکوئل انقباضي در حالت دیاستول

واکوئل غذایی Food vacuole

واکوئل‌هاي غذايي متعدد بوده و به تدريج ذرات غذايي محيط را در خود انباشته مي‌كنند و دريافت و جذب ذارت غذایی را به عهده دارند. جهت مشاهده اين اندامك‌ها از رنگ حياتي با غلظت پايين قرمز خنثي neutral red استفاده مي‌شود.

در تک یاخته ای مثل پارامسی که با توجه به سن تک یاخته و شرایط تغذیه ای آن،تعداد و اندازه واکوئل های غذایی متفاوت است و تجمع ذرات غذایی در واکوئل های غذایی تدریجي است.

بنابراین تجمع تدریجی رنگ قرمز خنثی Neutral red در واکوئل های غذایی و تغییر رنگ آن ها به قرمز کم رنگ تا پر رنگ بر حسب تجمع رنگ كمي پس از رنگ آميزي در زير ميكروسكوپ قابل مشاهده مي باشد.

طرز ساخت رنگ حیاتی قرمز خنثی

0.001-0.01 گرم رنگ قرمز خنثی در100 سی سی آب یا الکل مطلق حل شود (Alcoholic or Aquatic). در رابطه با تک یاخته هايي مثل پارامسي از آب جهت تهيه رنگ استفاده مي شود چون الكل باعث مرگ آنها مي شود.

اين رنگ پس از تهيه دارای ذرات كلوئيدی و غير قابل حل مي باشد و تک یاخته بعنوان غذا ذرات رنگ را بلعيده و واكوئلهاي گوارشي ان به رنگ قرمز كم رنگ مشاهده مي شوند.

واکوئل غذایی و طرز تشکیل آن Food vacuole



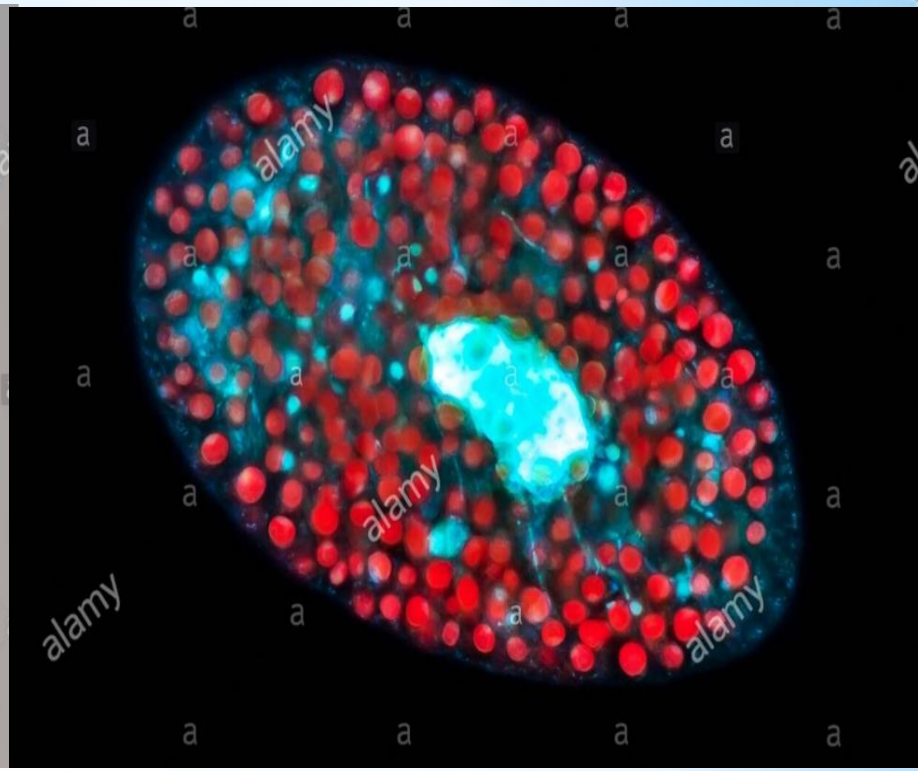


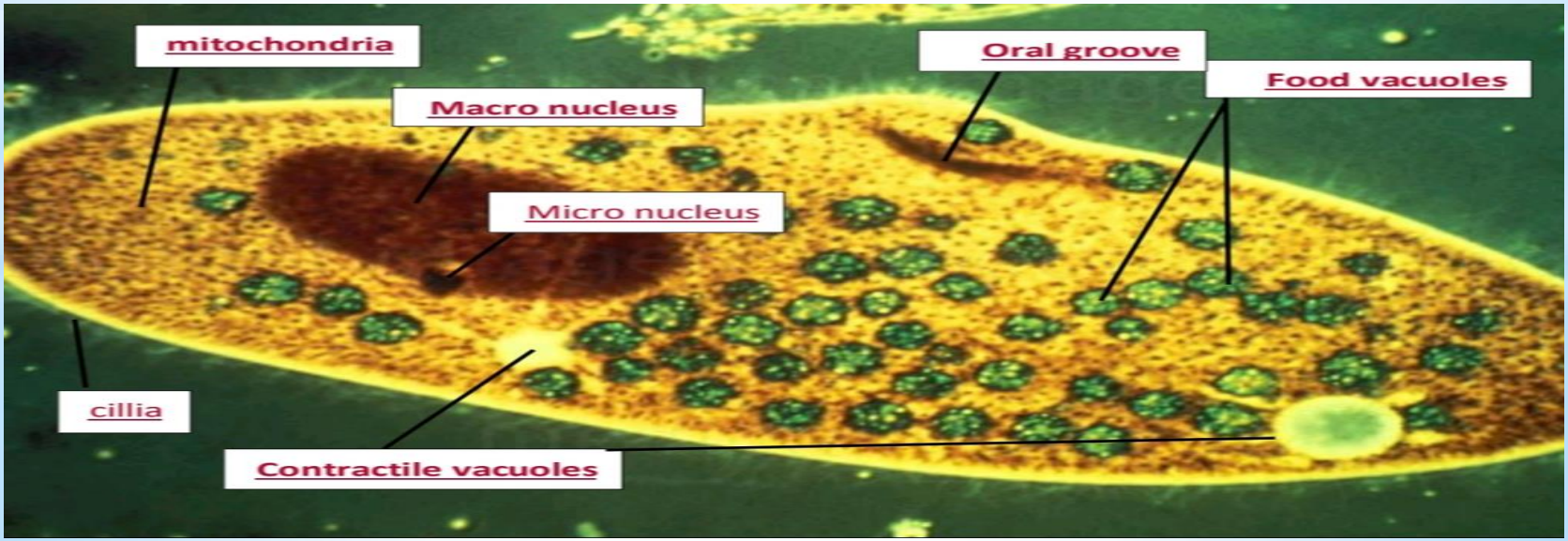











mitochondria
Macro nucleus
Micro nucleus
Oral groove
Food vacuoles
cillia
Contractile vacuoles

ميتوكندري mitochondria

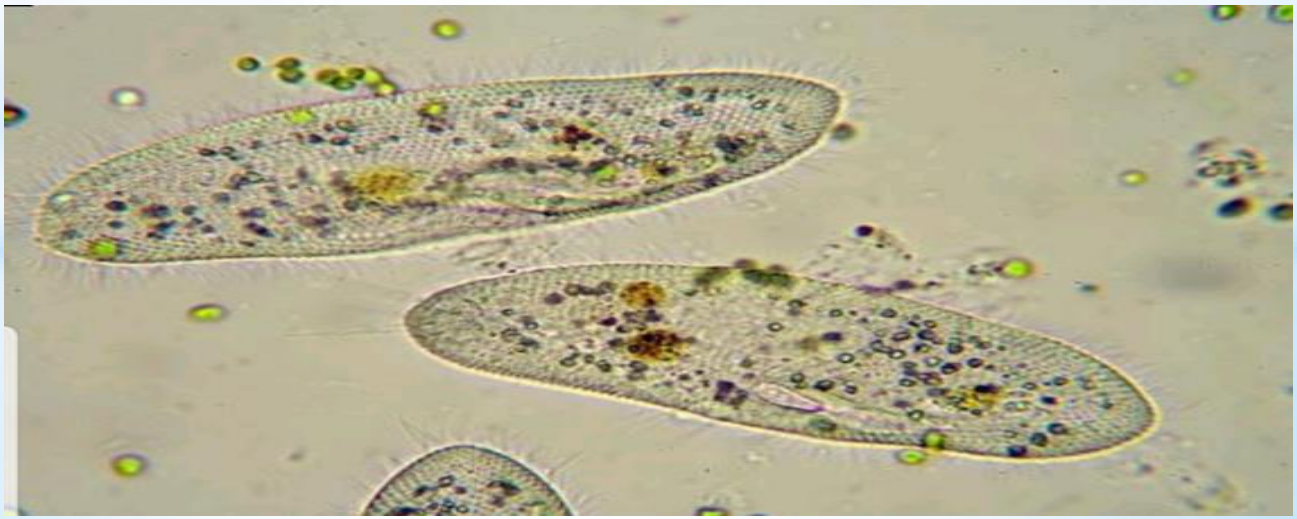
ميتوكندري ها 25 درصد حجم سلول‌هاي يوكاريوت‌را اشغال كرده و جايگاه تنفس سلولي‌هستند. اين اندامكها در ميكروسكوپ نوري با استفاده از تكنيك‌هاي رنگ‌آميزي حياتي قابل مشاهده‌اند،اما جزئيات ساختاري و فراساختاري آن‌ها فقط با ميكروسكوپ الكترونی گذاره قابل مشاهده مي‌باشد.

ساختار آن‌ها شبيه به باكتري‌هاي گرد تا ميله‌اي شكل بوده و قطري بين 1-0/5 ميكرون دارند و طول آن‌ها حدود 2-1 ميكرون مي‌باشد. پس از هسته، واكوئل و كلروپلاست، بزرگترين اندامك‌های درون‌سلولي هستند. تقسيم آن‌ها به صورت دوتايي(Binary fission) بوده كه در طول چرخه سلولي اندازه آن‌ها دو برابر و سپس تقسيم مي‌شوند. مطالعه ميتوكندري به دليل شفافيت زياد و ضريب شكست كمي كه دارد، توسط ميكروسكوپ نوري معمولي در سلول‌هاي زنده قدري مشكل است و با ميكروسكوپ زمينه متضاد phase contrast و افتراقي فاز متضاد تداخلي DIC دقيقتر و با كنتراست بالاتر مشاهده مي‌شود.

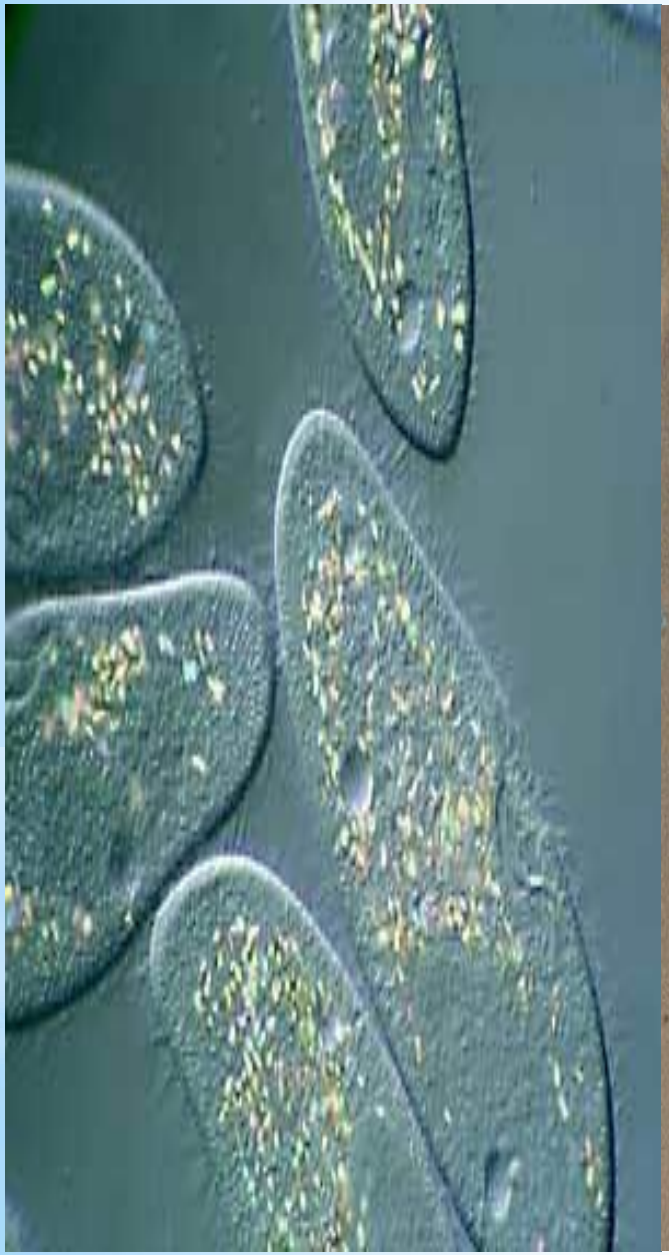
در ميكروسكوپ‌هاي نوري جهت بررسي آن‌ها به حالت زنده از محلول رنگي سبز ژانوس يا Janus green B استفاده مي‌كنيم كه اين رنگ ساختار ميتوكندري را به رنگ سبز-آبي كم رنگ در مي‌آورد.از آنجايي كه در ساختار غشاي داخلي ميتوكندری آنزيم سيتوكروم‌اكسيداز موجود در چرخه تنفسي سلولي با اين رنگ واكنش مي‌دهد، رنگ سبز ژانوس اكسيد شده و بدليل غلظت بسيار پايين به رنگ سبز-آبي كم‌رنگ مشاهده مي‌شود. در حاليكه اين رنگ در سيتوپلاسم سلول به حالت احيا و بي‌رنگ مي‌باشد.

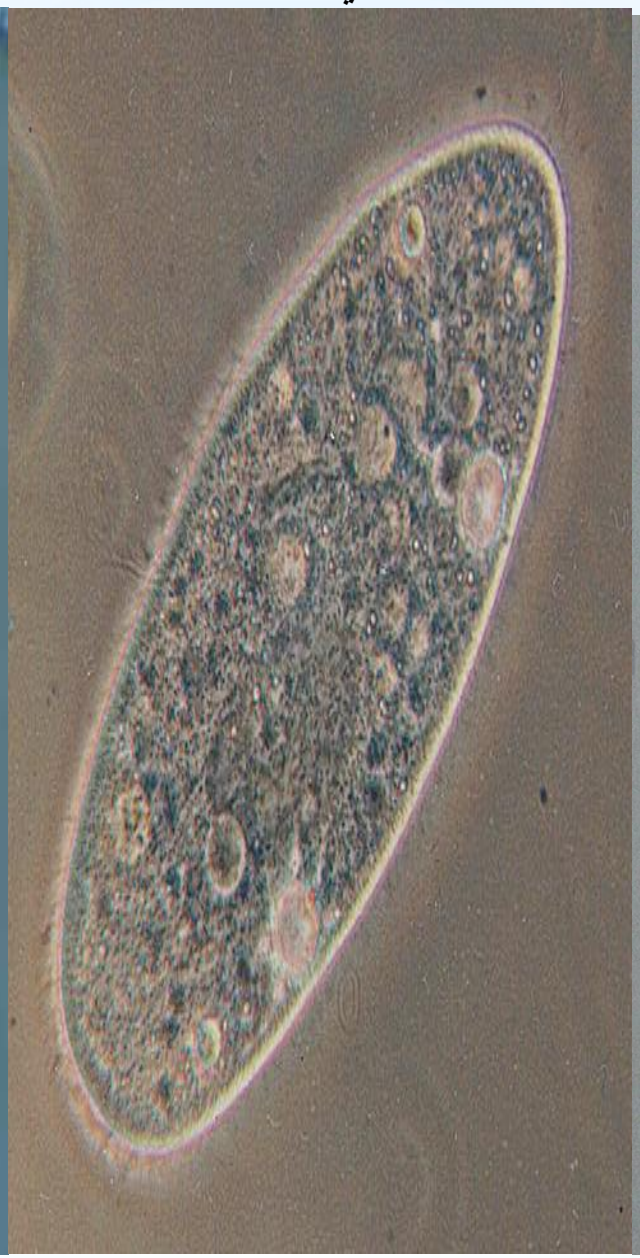
طرز ساخت رنگ حیاتی سبز ژانوس

این رنگ باغلظت بسیار پایین 0.004گرم در 100 سی سی آب یا الکل مطلق به صورت 0.004درصد، ساخته می شود.



ميتوكندريmitochondria





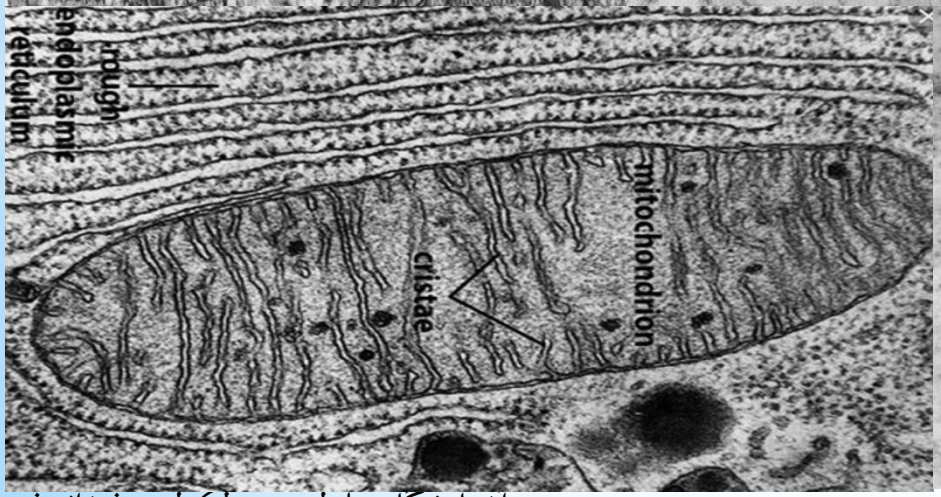


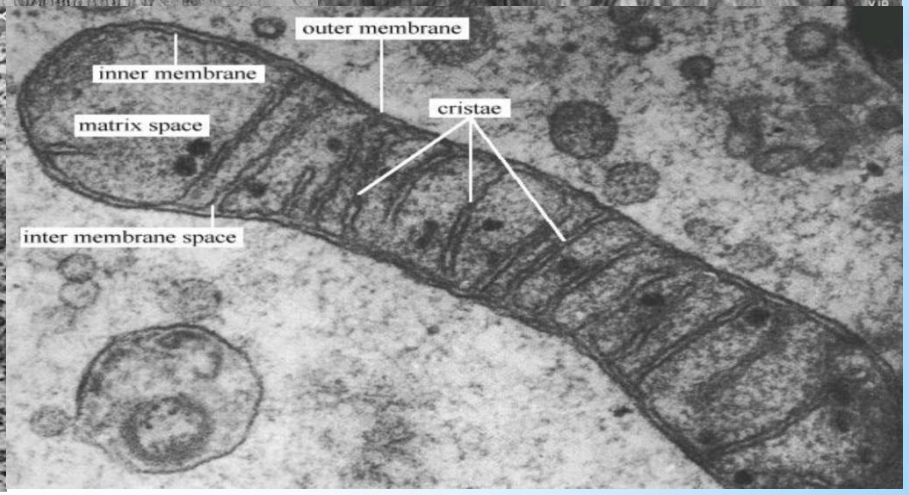
مراحل بلوغ و تکامل میتوکندری درسلول تحت میکروسکوپ الکترونی ترانسمیشن











اندامک حرکتی cillia

در تک یاخته ها زوائد دائمی حرکتی مژک ها (Cillia) و تاژک ها (flagella) می باشند که ساختاری کاملا مشابه دارند و از تعدادی میکروتوبول با نظمی خاص تشکیل یافته اند.
تفاوت مژک ها و تاژک ها عمدتا در طول و تعداد آن هاست.اگر طول کم و تعداد زیاد باشد مژک گفته می شوند.حرکت تاژک ها به صورت موجی و از رأس به طرف قاعده تاژک ویا برعکس می باشد.در حالی که حرکت مژک ها به صورت پارویی انجام می شود. مشاهده اندامک حرکتی مژه به دلیل تراکم و تعداد بیشتر در سطح میکروسکوپ نوری بهتر امکان پذیر می باشد.

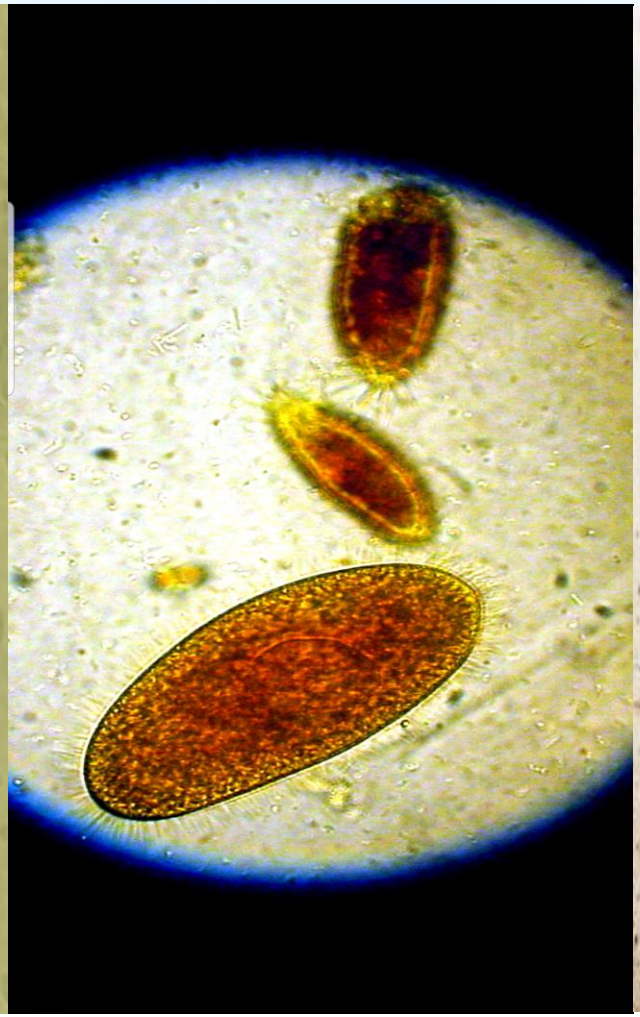
جهت مشاهده ساختار حرکتی مژه یا تاژک از رنگ غیر حیاتي لوگل lugol یا یدیدوره یا ید یدور پتاسیم (IKI)استفاده مي‌شود. این رنگ در آب مقطر و با افزودن بلور ید و یدور پتاسیم تهیه مي‌شود.بلور ید به دلیل سمی بودن برای سلول های زنده در غلظت استفاده شده ،این رنگ آمیزی را غیر حیاتی می سازد.

طرز ساخت رنگ غیر حیاتی لوگل

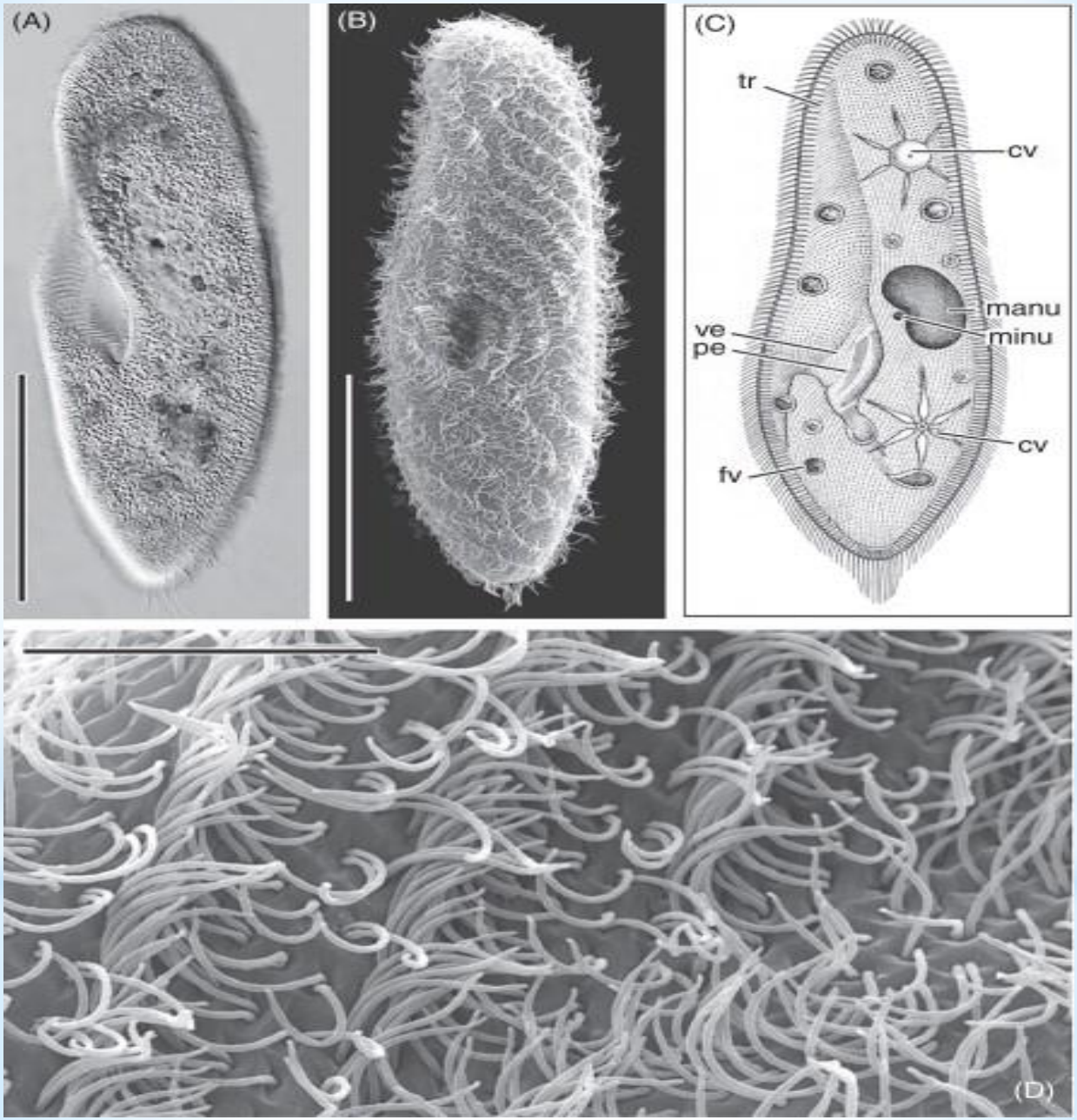
این رنگ در100 سی سی آب مقطر با افزودن بلور ید به میزان 1 گرم به یدور پتاسیم به میزان 2 گرم تهیه می شود و aquatic میباشد و اندامک های حرکتی را به رنگ زرد طلایی در می آورد.

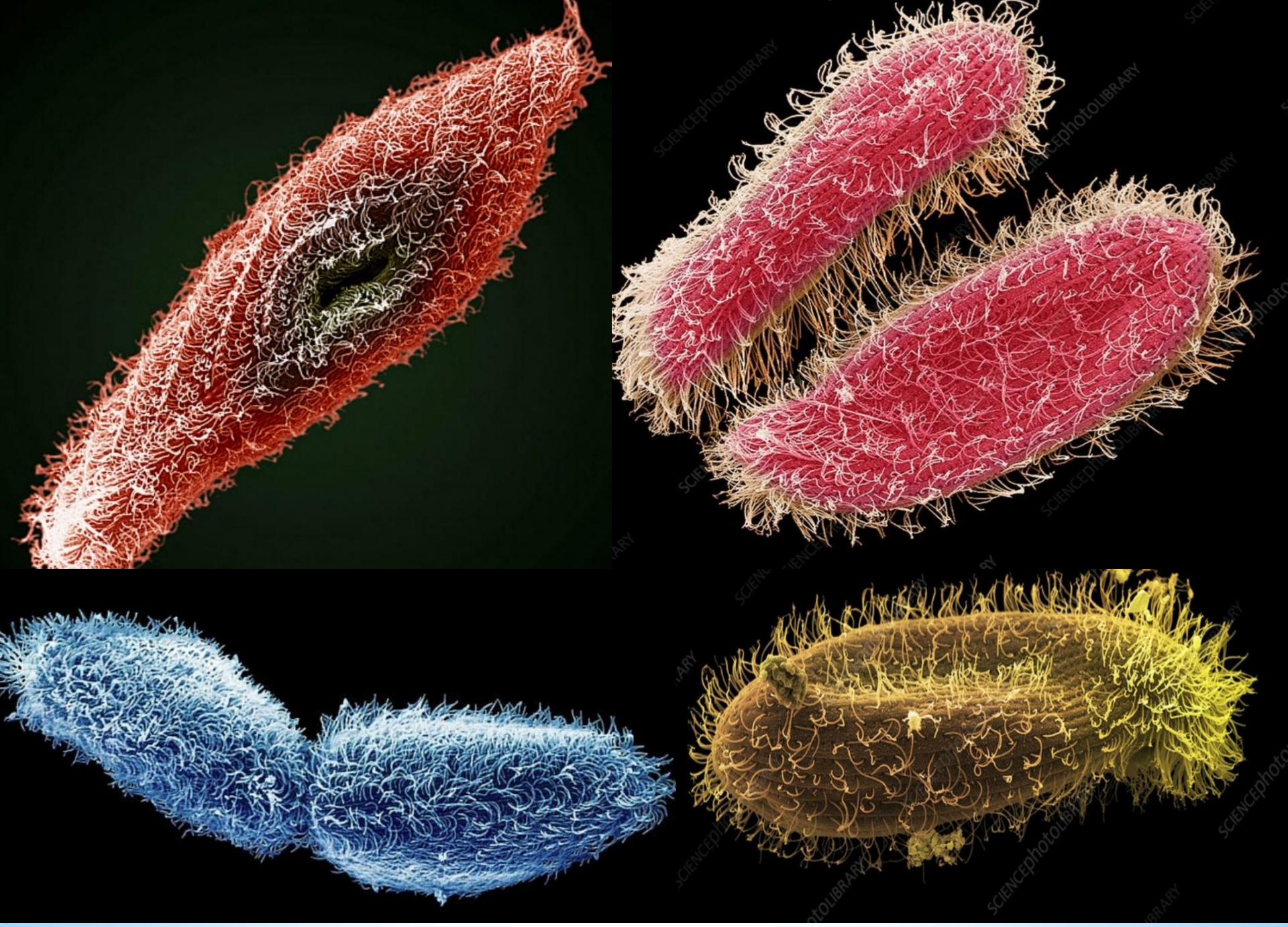
مژک Cillia








(A)
(B)
(C)
tr
cv
manu
minu
ve
pe
cv
fv
(D)



هسته nucleus

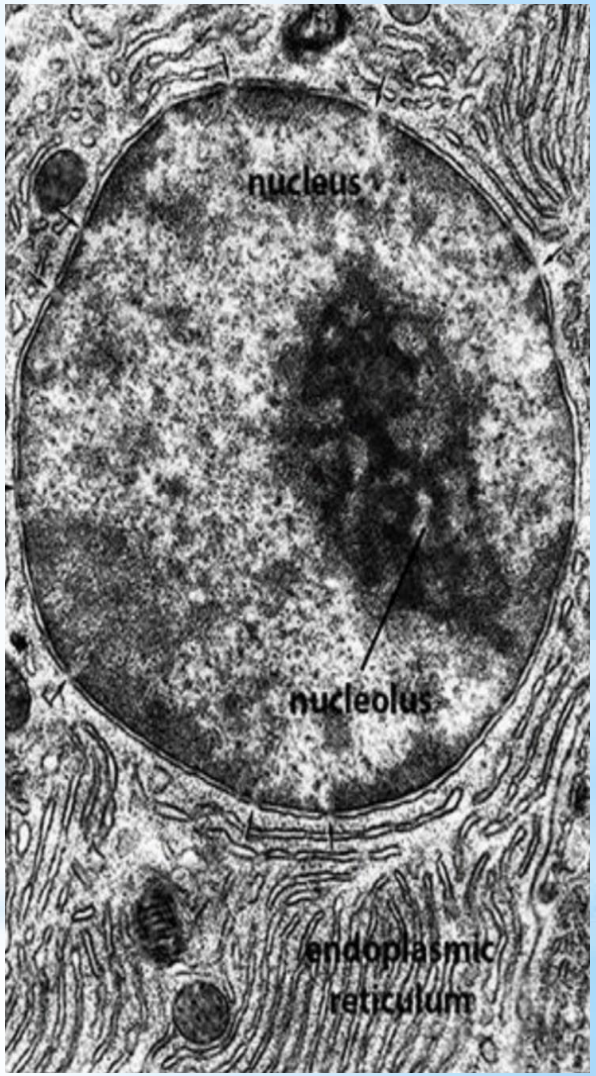
شکل و اندازه وتعدادهسته در تک یاختگان بسیار متنوع است وبه ابعاد مختلف دیده می شود.اکثر تک یاختگان یک هسته دارند اما برخی از آن ها در تمام یا دوره ای از زندگی خود ممکن است بیش از یک هسته داشته باشند.

به منظور مشاهده هسته از رنگ حیاتی آبی متیل یا methylene blue استفاده می شود. این رنگ هسته را به رنگ آبی آسمانی کم رنگ درمی آید. رنگ آمیزی هسته توسط آبی متیل تدریجا انجام می شود و حدود 5 الی 10 دقیقه طول می کشد تا مولکول هاي رنگ از غشا دو لایه هسته عبور کند و با پروتئین هاي ساختاري هسته ترکیب گردند. در این مدت زمان میتوان viability غشا سلول زنده را نیز بررسی نمود.

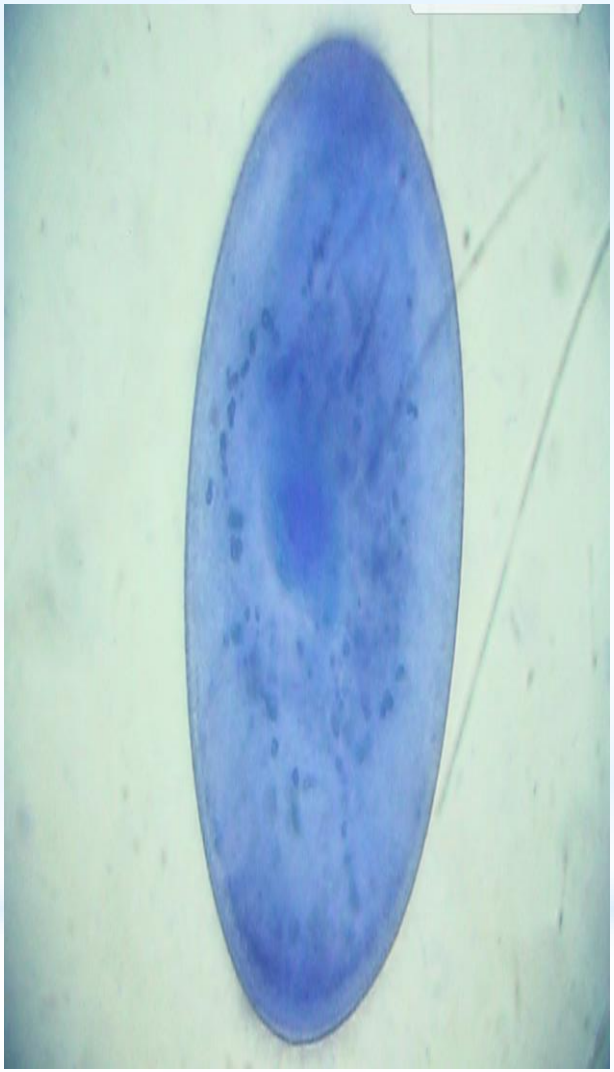
طرز ساخت رنگ حیاتی آبی متیل

0.01 گرم رنگ آبی متیل در 100 سی سی آب مقطر حل شود بدین ترتیب رنگ با غلظت پایین 0.01 درصد آب مقطرaquatic تهیه می شود.

nucleus هسته



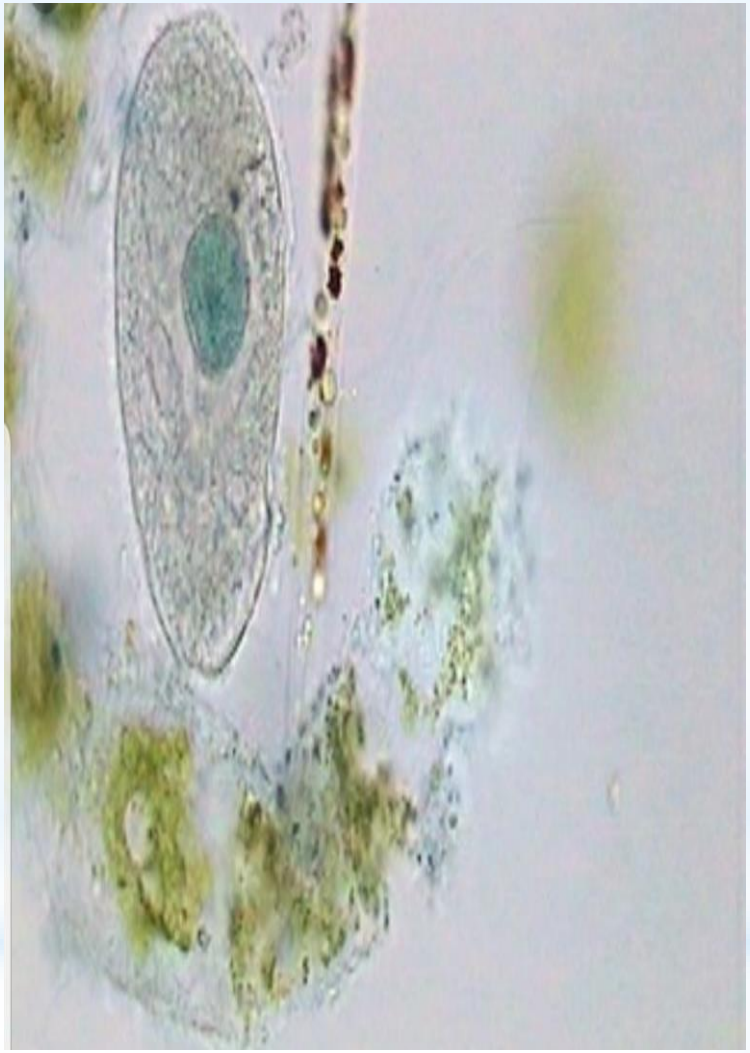
مشاهده هسته در میکروسکوپ الکتروني



مشاهده هسته رنگآميزي توسط آبي متيل بيانگرعدم وجود viabilityغشا سلول زنده



مشاهده هسته رنگآميزي توسط آبي متيل بيانگرviabilityغشا سلول زنده



مشاهده هسته رنگآميزي توسط سبز متيل بيانگرviabilityغشا سلول زنده

غشاء پلاسمایی Plasmalemma

غشاء پلاسمایی مرز بین سلول و محیط خارج سلول است و جایگاه اصلي مبادله مواد بين سلول و محيط اطراف يا سلول مجاور مي‌باشد. به علاوه در حفظ تركيبات سلول، شناسايي تركيبات خارجي، برقراري اتصالات سلولي، ايمني و سازگاري سلول با محيط اطراف و سلول‌هاي مجاور نقش اساسي دارد.جهت بررسی Viability یا زنده بودن و نفوذ پذیری انتخابی غشاء یک سلول زنده نیز،می توان از رنگ های حیاتی استفاده کرد که شرح آن در روش کار آمده است .

سیکلوسیس cyclosis یا جریان سیتوپلاسمی cytoplasmic streaming

واژه سیکلوز به معنی چرخندگی می باشد و به مفهوم جریان چرخشی یا منظم درون سیتوپلاسمی است که اجزاء سلول را به حرکت در می آورد.میکروتوبول های درون سلولی عامل اصلی ایجاد این حرکت و سازماندهی آن می باشد.پروتئین های اکتین و میوزین از ترکیبات مهم دخیل در ایجاد این جریان می باشد.سیکلوز یک حرکت آرام و دائمی در سیتوپلاسم در جهات مختلف است که در اثر آن مواد درون سلولی و اندامک ها جابجا می شوند.در این آزمایش در زمان شناسایی و رنگ آمیزی اندامک های درون سلولی با مشاهده دقیق این اندامک به مدت چند ثانیه متوالي و دنبال کردن مسیر حرکت انها در سیتوپلاسم با چشم میتوان جریان سیتوپلاسمی در سلول را مشاهده کرد.


مواد و وسایل مورد نیاز

مواد و وسایل مورد نیاز

1. محیط کشت هی HEY
2. قرمز خنثی
3. سبز ژانوس
4. لوگل(ید یدوره)
5. آبی متیل یا سبز متیل
6. فرمالین
7. لام ولامل
8. پاستور پیپت
9. میکروسکوپ

روش كار

در اين آزمايش از محيط كشت هي كه حاوي تك ياخته‌هاي مختلف مي‌باشد، جهت انجام رنگ‌آميزي حياتي و غير حياتي و مشاهده اندامك‌هاي درون‌سلولي استفاده مي‌شود. اين محيط را با افزودن چند دانه گندم، ذرت و برگ‌هاي پوسيده زير درختان به آب بركه، حداقل چند روز قبل از آزمايش فراهم كنيد. ضمن انجام ازمايش و درک مفهوم رنگ‌آميزی زيستی و غير زيستی برخی از اندامک‌های درون سلولی که در ميکروسکوپ نوری قابل رؤيتند، رنگ‌آميزی و مشاهده می‌شوند.

ابتدا جهت مشاهده واكوئل‌هاي غذايي يك قطره از محيط هي را توسط پاستورپيپت روي لام قرار داده و يك قطره رنگ قرمز خنثي بر روي آن ريخته، پس از لامل گذاري در بزرگنمايي 40x بعد از چند دقيقه مشاهده كنيد. به حالت زنده و متحرك تك‌ياخته‌ها دقت شود. همچنين دقت شود که واکوئل‌های غذايی به تدريج ذرات کلوييدی رنگ را بدرون خود جذب کرده و پر رنگ‌تر می‌شوند. به واکوئل‌های انقباضی نيز دقت شود که در دو قطب پيکر پارامسی قرار داشته ،کاملا کروی و بی‌رنگ هستند و نفوذ پذيري نسبت به رنگ ندارند.

قطره دیگری از محیط هي را روي لام گذاشته و جهت مشاهده میتوکندري از سبز ژانوس استفاده کرده، لامل گذاري کنید و ابتدا در بزرگنمايي 40x و پس از ثابت شدن تك‌یاخته در بزرگنمايي40 یا 100x این اندامك‌ها را مشاهده کنید. به فرم عمومي آن‌ها توجه کنید که شبیه باکتریها هستند. بدیهي است که به دلیل کوچکي و شفافیت آن‌ها بایستي کلیه امکانات تنظیم نور و کنتراست در میکروسکوپ به کارگرفته شود و با تنظیم پیچ میکروفوکوس این اندامك دقیقاً بررسي شود. به زنده بودن تك‌یاخته‌ها توجه کنید.
همچنین دقت شود در تک‌یاخته‌های زنده حرکت میتوکندری در داخل سیتوپلاسم که بیانگر برقراری جریان سیتوپلاسمی می‌باشد، قابل توجه می‌باشد.

جهت مشاهده ساختار حرکتي، مجدداً یك قطره از محیط هي را روي لام قرار داده و پس از افزودن لوگل لامل گذاري کنید و نمونه را در بزرگنمايي ٤٠ مشاهده کنید. دقت شود که با افزودن این رنگ غیر حیاتي، نمونه ثابت شده و تحرك و حیات خود را از دست مي‌دهد.
تک یاخته‌هایی با مژه یا تاژک‌های درشت‌تر را انتخاب و با فوکوس روی اندامک‌های حرکتی آن‌ها را بررسی کنید.

به منظور مشاهده هسته و بررسي viability يا توانايی نفوذپذيری انتخابی غشاء سلول زنده در تك‌ياختگان بر روي دو گوشه يك لام هر طرف يك قطره محيط هي بگذاريد، به هر كدام يك قطره رنگ آبي متيل افزوده يك طرف را لامل گذاري كرده تا در نمونه‌هاي زنده هسته را مشاهده كنيد. دقت كنيد پس از چند دقيقه هسته متمايز مي‌شود.

به طرف ديگر پس از افزودن يك قطره فرمالين لامل گذاري كنيد. نمونه را در بزرگنمايي x40 مشاهده كنيد. دقت كنيد كه پس از افزودن فرمالين تک ياخته‌ها حيات خود را از دست می‌دهند بدين ترتيب نفوذپذيری انتخابی غشا را در اين قسمت با طرف ديگر لام مقايسه و تفسيركنيد.

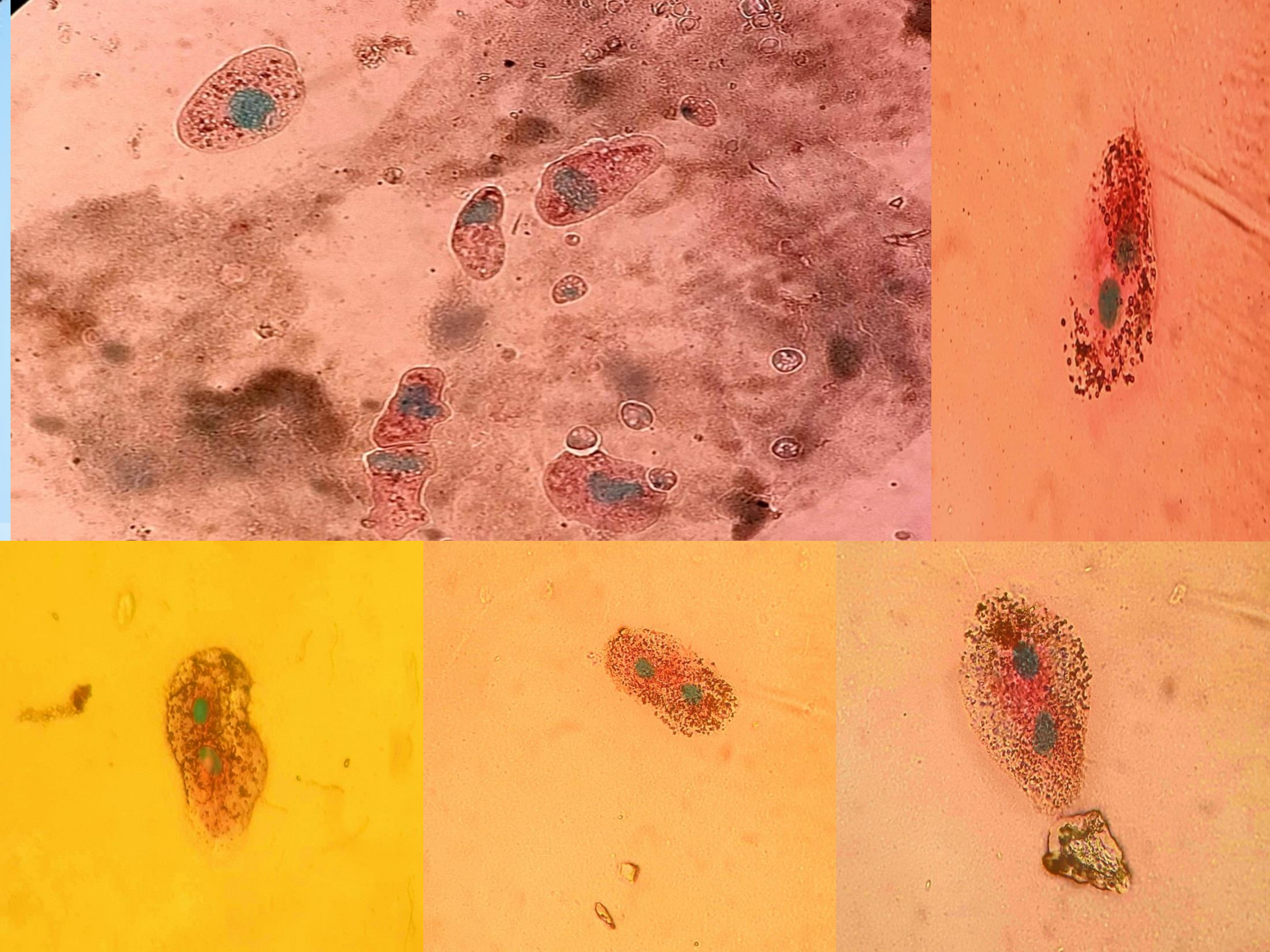
رنگ آميزي سه گانه در تک ياختگان

رنگ آميزي سيتوپلاسم توسط فوشين اسيدي،هسته توسط سبز متيل يا ابي متيل،رنگ آميزي ميتوکندري توسط سبز ژانوس انجام مي شود.

دليل رنگ شدن سيتوپلاسم توسط فوشين اسيدی اين است که سيتوپلاسم به‌دليل انجام واکنش‌های شيميايی و آنزيمی و وجود نمک ها، پروتئين‌های بازی، گليکوژن ها و انجام فعاليت‌های متابوليکی درون سلولی دارای PH بازی است و با رنگ فوشين اسيدی ترکيب شده رنگ صورتی ايجاد می‌کند.

دليل رنگ‌آميزی هسته توسط سبز متيل و وجود اسيدهای نوکلئيک در هسته است که به هسته خاصيت اسيدی می دهند و همچنين توسط اسيداستيک اسيدی ترشده و با ترکيب شدن با سبز متيل سبز بنظر می رسند.

علت رنگ‌پذيری ميتوکندری توسط سبز ژانوس اين است که در غشاء داخلی ميتوکندری آنزيم‌های اکسيد کننده قوی از جمله آنزيم سيتوکروم اکسيداز وجود دارد که با اين رو رنگ ترکيب شده و آن را اکسيد کرده و ميتوکندری را به سبز آبی بسيار کم رنگ در می‌آورد.



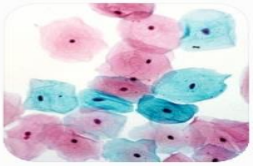
تکنیک رنگ‌آمیزی پاپانیکولائو (Papanicolaou stain) در دستهٔ **رنگ‌آمیزی غیرحیاتی (Non-vital staining)** قرار می‌گیرد.

- **غیرحیاتی:** رنگ‌آمیزی روی سلول‌هایی انجام می‌شود که خارج از بدن جمع‌آوری شده‌اند و معمولاً تثبیت شده‌اند؛ مانند سلول‌های اسمیر دهانهٔ رحم.

چرا این رنگ‌آمیزی در سیتولوژی اهمیت دارد؟

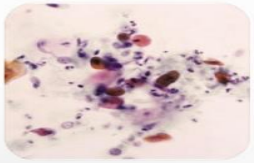
مزیت اصلی آن، نمایش مناسب جزئیات هسته‌ای و تمایز رنگی سیتوپلاسم است؛ بنابراین در ارزیابی مورفولوژی سلول‌ها، به‌ویژه سلول‌های غیرطبیعی، کاربرد دارد.

کاربردهای رنگ‌آمیزی پاپانیکولائو



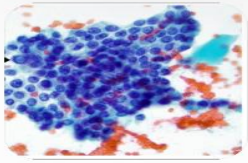
۱. اسمیر دهانه رحم

بررسی سلول‌های دهانه رحم برای شناسایی تغییرات پیش‌سرطانی و سرطانی؛ این شناخته‌شده‌ترین کاربرد روش است.



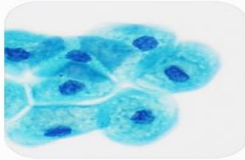
۲. نمونه‌های خلط

بررسی سلول‌های جداشده از دستگاه تنفسی، به‌ویژه در ارزیابی احتمال بدخیمی.



۳. نمونه‌های آسپیراسیون با سوزن ظریف (FNA)

در برخی آزمایشگاه‌ها برای بررسی نمونه‌های تیروئید، غدد لنفاوی و توده‌های مختلف استفاده می‌شود.



۴. سیتولوژی ادرار و سایر مایعات بدن

برای بررسی سلول‌های موجود در ادرار، مایعات پلور و برخی نمونه‌های دیگر، بسته به نوع نمونه و پروتکل آزمایشگاه.