



دانشکده علوم و فن آوری های زیستی
آزمایشگاه کشت سلول

آشنایی با تجهیزات آزمایشگاه کشت سلول
(Cell Culture Laboratory Equipment)

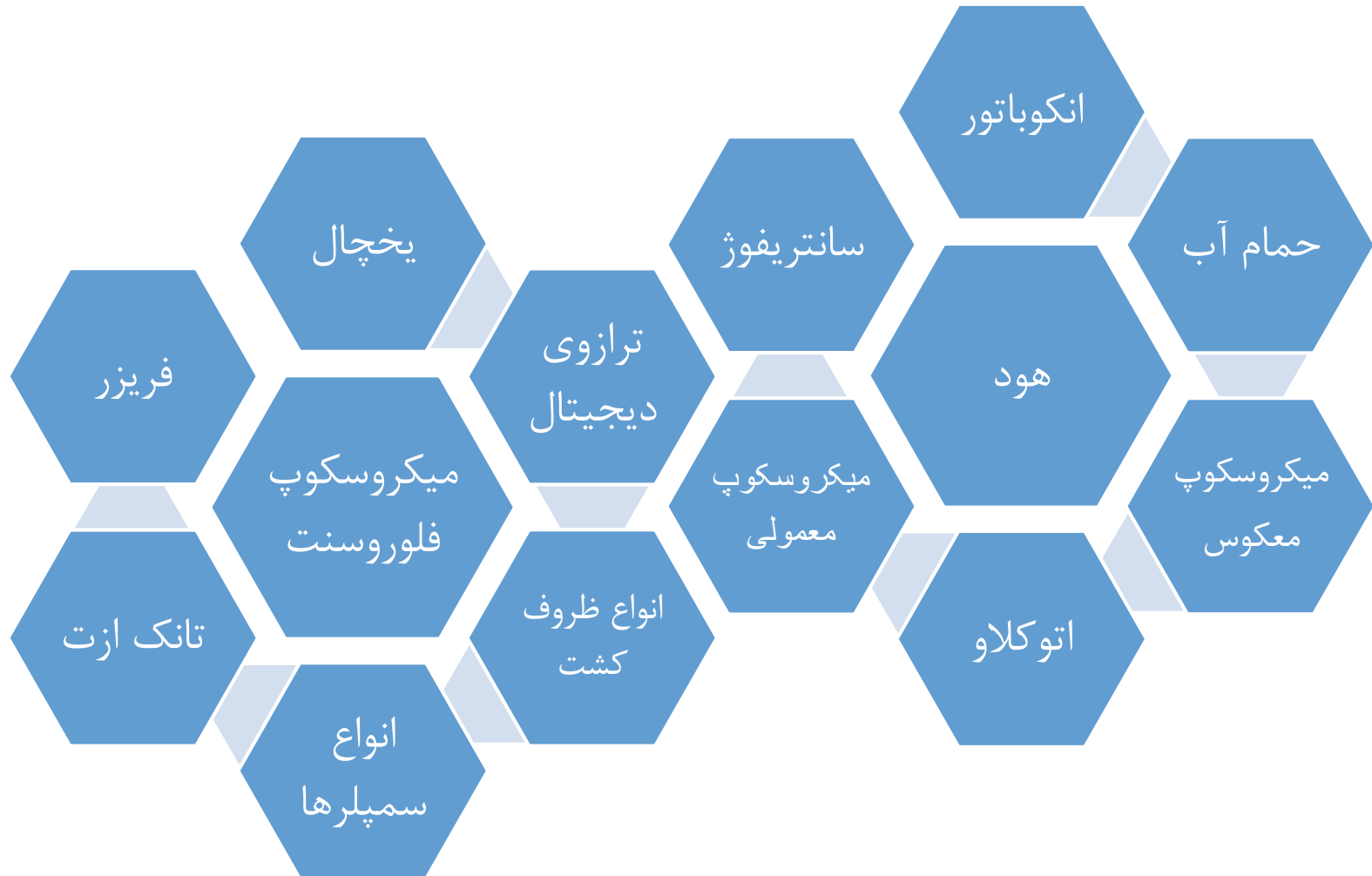
ارائه کننده: شیرین کشفی

دکتری تکوین جانوری

sh.kashfi@staf.ui.ac.ir



مهمترین تجهیزات مورد استفاده در آزمایشگاه کشت سلول



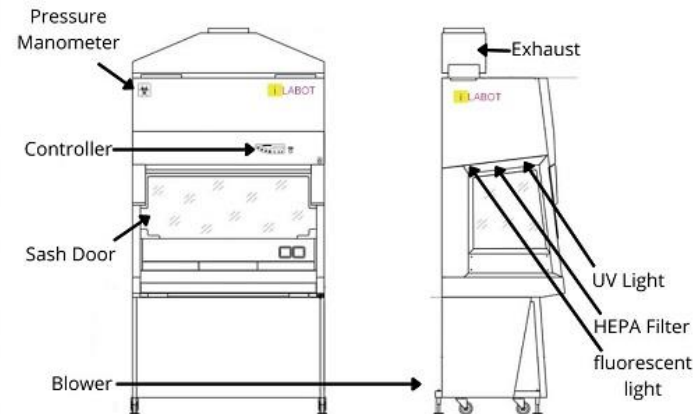


کابینت ایمنی زیستی (هود) (Biological Safety Cabinet (BSC)/ Hood)

- ▶ اگرچه وجود اتاقی مجزا برای کشت ارجحیت دارد، اما می توان از فضایی مشخص در یک آزمایشگاه بزرگتر نیز برای انجام عملیات کشت سلول استفاده کرد. ساده ترین و مقرون به صرفه ترین روش برای فراهم آوردن شرایط استریل، استفاده از هود کشت سلول است
- ▶ هود کشت سلول، فضایی بسته یا نیمه بسته استریل برای کار فراهم می کند و در عین حال امکان مهار ترشحات عفونی یا ذرات معلق (aerosol) را میسر می سازد. هودها در عین حال از کاربر (operator) نیز محافظت به عمل می آورند
- ▶ نحوه عمل هودها به این ترتیب است که ابتدا بخارات، گازهای مضر و ذرات معلق را از محل تولید جذب می کند و جریان هوا را به صورت کنترل شده به داخل می کشد و سپس این هوا از طریق سیستم تخلیه به بیرون هدایت می شود. در برخی از هودها این هوا قبل از خروج از فیلترهای ویژه ای عبور می کنند. بنابراین، حفاظت از کاربر و و محصول از طریق ترکیبی از جریان هوا و فیلترهای ویژه تأمین می شود



Biosafet Cabinet





سه نوع هود کابینت ایمنی زیستی (هود) با نام های کلاس I، کلاس II و کلاس III برای پاسخگویی به نیازهای گوناگون پژوهشی و بالینی طراحی و ساخته شده اند

Biosafety Cabinets



Class I



Class II



Class III



هودهای کلاس I

- ▶ این نوع هودها در صورت به کارگیری روش های درست میکروبیولوژیک، سطح قابل توجهی از حفاظت را برای کارکنان و محیط فراهم می کنند؛ اما از کشت های سلولی در برابر آلودگی محافظت نمی کنند. طراحی و ویژگی های جریان هوا در این هودها مشابه هودهای محافظت از بخارهای شیمیایی است
- ▶ از این نوع هودها می توان برای جداسازی سلول از نمونه های جانوری یا کاربری های بافت شناسی و جنین شناسی استفاده نمود





هودهای کلاس II

- این نوع هودها برای کشت سلول طراحی شده اند و محیطی آسپتیک که برای آزمایشگاه های کشت سلولی ضروری است، فراهم می کنند. برای کار با مواد بالقوه خطرناک (مانند کشت های مشتق شده از پستانداران عالی، کشت های آلوده به ویروس، رادیوایزوتوپ ها و مواد شیمیایی سرطان زا یا سمی) نیز باید از این نوع هودها استفاده کرد
- این نوع هودها از کاربر، محیط و نمونه ها محافظت به عمل می آورند
- هوای خروجی هود ممکن است از طریق کانالی به فضای آزاد هدایت شود یا اینکه در این نوع هودها از سیستمی از فیلترهای HEPA استفاده شود که هوای تصفیه شده را دوباره وارد فضای آزمایشگاه می کند
- HEPA مخفف عبارت High Efficiency Particular Air (فیلتر هوای ذرات با کارایی بالا) است. این فیلترها می توانند ذرات بزرگتر از $0.3 \mu m$ را جذب نماید
- هودهای کلاس II به انواع A1، A2، B1 و B2 تقسیم می شوند. مهمترین تفاوت انواع هودهای کلاس II حداقل سرعت جریان ورودی و سیستم های تخلیه آنها است





هودهای کلاس III

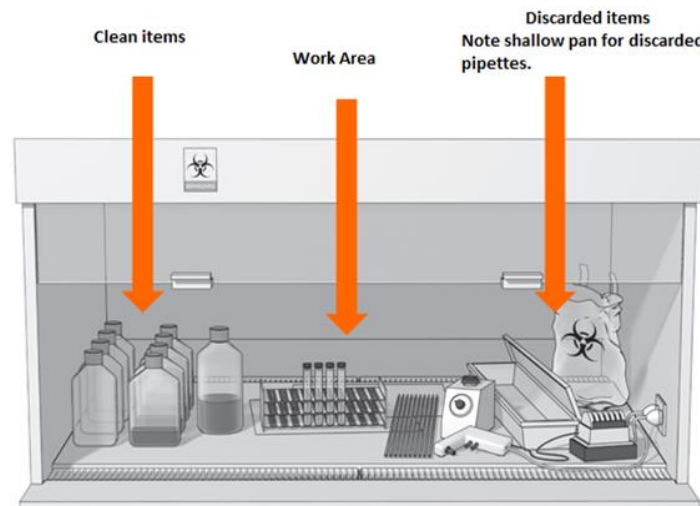
- ▶ این نوع هودها کاملاً نسبت به گاز نفوذناپذیر هستند و بالاترین سطح ممکن از حفاظت را برای کارکنان و محیط زیست فراهم می کنند. استفاده از هودها برای کار با عوامل بیماری زای شناخته شده انسانی و سایر مواد نیازمند سطح ایمنی بالا است
- ▶ هودهای کلاس III به نام جعبه های دستکش دار (glove boxes) هم شناخته می شوند. ورود و خروج مواد و وسایل به این نوع از هودها از طریق مخازن دو در انجام می شود





روش کار با هود

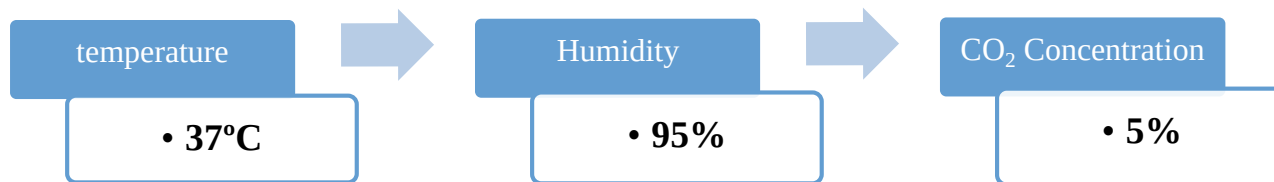
- ▶ ۲۰-۱۵ دقیقه قبل از شروع به کار باید هود را روشن و فن آن را به کار انداخت
- ▶ تعداد دفعات ورود و خروج به هود را به حداقل برسانید تا جریان هوا مختل نشود
- ▶ قبل و بعد از کار تمام سطح هود با گاز استریل و الکل ۷۰ درصد تمیز می شود (از پاشیدن الکل به فیلترها باید خودداری شود)
- ▶ قبلاً گذاشتن مواد و وسایل زیر هود همه آنها را کاملاً با الکل ضدعفونی کنید
- ▶ هرگز مواد مورد نیاز برای کشت یا ظروف محتوی سلول را خارج از فضای هود باز نکنید
- ▶ از گذاشتن وسایل و مواد اضافی در زیر هود باید خودداری نمود
- ▶ از باز کردن بیش از اندازه پنجره هود خودداری کنید
- ▶ قبل از شروع آزمایش مواد و وسایل را در جای مناسب در هود قرار دهید. نحوه چیدمان مواد و وسایل معمولاً از الگوی استاندارد برای افراد راست دست پیروی می کند (البته می توان برای کاربردهای خاص چیدمان را تغییر داد). فضای کاری وسیع و خلوت در مرکز هود برای قرار دادن ظروف کشت در نظر گرفته می شود
- ▶ بعد از اتمام کار و یا در آخر روز کاری روشن کردن چراغ UV توصیه می شود





انکوباتور (Incubator)

- ▶ انکوباتور دستگاهی است که شرایط فیزیکی و شیمیایی مناسب برای رشد و نگهداری سلول ها را فراهم می آورد. شرایط بهینه برای سلول های مختلف متفاوت است. هدف اصلی این است که شرایط محیط کشت تا حد امکان به شرایط فیزیولوژیک در بدن نزدیک باشد
- ▶ شرایط بهینه برای سلول های پستانداران و محیط کشت های آنها معمولاً به صورت زیر است:



- ▶ بسیاری از محیط های کشت دارای سدیم بی کربنات (NaHCO_3) در فرمولاسیون خود هستند. دی اکسید کربن موجود در انکوباتور با سیستم بی کربنات محیط کشت وارد تعامل می شود و یک سیستم بافری ایجاد می کند که به حفظ pH مناسب محیط کمک می کند
- ▶ غلظت دی اکسید کربن به فرمولاسیون محیط کشت و مقدار بیکربنات آن بستگی دارد. برای بسیاری از انواع رایج محیط های کشت سلول غلظت ۵٪ دی اکسید کربن مقدار استاندارد است. این مقدار باعث می شود سیستم $\text{CO}_2/\text{NaHCO}_3$ بتواند pH را در محدوده مناسب برای بسیاری از سلول های پستانداران نگاه دارد
- ▶ بنابراین، غلظت دی اکسید کربن باید متناسب با سیستم بافری محیط کشت و دستورالعمل سازنده تنظیم شود



- ▶ وجود رطوبت بالا در انکوباتور باعث کاهش تبخیر آب از محیط کشت می شود
- ▶ اگر تبخیر زیاد شود، غلظت نمک ها و مواد محلول افزایش می یابد که خود موجب تغییر اسمولالیتة و ایجاد استرس برای سلول می شود. به همین دلیل در انکوباتورها یک ظرف محتوی آب شده تحت عنوان water pan/ reservior وجود دارد
- ▶ از طرفی وجود محیط مرطوب در داخل انکوباتورها محیط مناسبی برای رشد باکتری ها و قارچ ها فراهم می کند
- ▶ برای بسیاری از سلول های پستانداران دمای فیزیولوژیک بدن ۳۷ درجه سانتیگراد است و این دما برای فعالیت آنزیمی و متابولیسم و در نتیجه رشد سلول مناسب است

نکات زیر در هنگام کار با انکوباتور رعایت شود:

- ▶ دما، غلظت دی اکسید کربن و رطوبت به طور منظم کنترل شود
- ▶ از باز و بسته کردن بیش از حد درب انکوباتور خودداری شود
- ▶ آب مقطر استریل شده استفاده شود. هر هفته ظرف آب شسته، ضدعفونی و با آب تازه استریل پر شود
- ▶ می توان از سولفات مس یک درصد در داخل آب برای جلوگیری از رشد قارچ ها استفاده کرد (مطابق با دستورالعمل سازنده انکوباتور)
- ▶ با یک برنامه مشخص باید داخل انکوباتور شسته و با اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شود



سانتریفوژ (Centrifuge)

- ▶ سانتریفوژها برای ته نشین کردن سریع سلول ها به صورت رسوب (pellet) به کار می روند. در نتیجه این کار می توان سلول ها را به محیط های دیگر منتقل کرد
- ▶ پس از سانتریفوژ می توان مایع رویی را خارج و رسوب سلولی را به صورت سوسپانسیون درآورد
- ▶ سانتریفوژ باید در جایی قرار گیرد که برای تمیز کردن به راحتی در دسترس باشد و از میکروسکوپ دور باشد زیرا ارتعاش آن می تواند به میکروسکوپ صدمه بزند
- ▶ در طی سانتریفوژ باید مواظب بود که لوله ها بیش از حد پر نشده باشند و تعادل آنها به دقت رعایت شود تا احتمال آسیب به سلول ها و موتور دستگاه کمتر شود. رسوب سلولی رضایت بخش بین ۸۰-۱۰۰ g به دست می آید؛ نیروی جاذبه بیشتر می تواند موجب صدمه و آگلوتیناسیون (به هم چسبیدن) سلول ها شود
- ▶ هنگام سانتریفوژ درب نمونه ها باید کاملاً بسته باشد، تولید جریان شدید هوا امکان ورود آئروسل های موجود در هوا را افزایش می دهد
- ▶ از توقف ناگهانی دستگاه باید جلوگیری شود زیرا باعث جدا شدن سلول ها از ته لوله سانتریفوژ می شود
- ▶ قطعات قابل جدا شدن دستگاه سانتریفوژ باید به صورت هفتگی شسته و کل دستگاه با اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شود





حمام آب (Water bath)

- ▶ حمام آب برای یخ زدایی (thawing) سلول های فریز شده به کار می رود. همچنین برای غیر فعال کردن سرم و گرم کردن محیط کشت و معرف ها قبل از کشت به کار می رود
- ▶ حمام آب به عنوان منبع احتمالی آلودگی باکتریایی و قارچ ها باید به طور مرتب تمیز و با آب مقطر تازه پر شود
- ▶ این دستگاه نیز طبق برنامه آزمایشگاه باید با مواد شوینده مناسب شستشو و با الکل ۷۰ درجه ضدعفونی شود

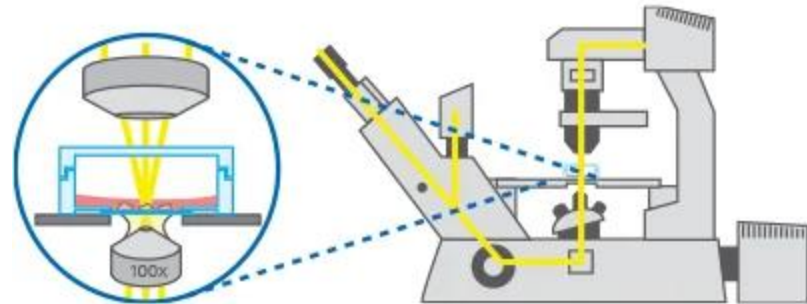


میکروسکوپ معکوس (Inverted Microscopes)

▶ کنترل منظم کشت های سلولی ضروری است زیرا اطلاعات فراوانی در مورد رشد سلول، مورفولوژی آن، سلامت عمومی و احتمال آلودگی با باکتری ها یا قارچ در کشت سلول از این طریق فراهم می شود. میکروسکوپ معکوس وسیله ترجیحی برای طیف وسیعی از کاربردهای تصویر برداری از سلول های زنده است. چیدمان خاص میکروسکوپ های معکوس به ویژه برای تصویربرداری از سلول های زنده، مزایای متمایزی در حفظ شرایط فیزیولوژیکی و یکپارچگی نمونه دارد و امکان مشاهده و تصویربرداری در دوره های طولانی را مقدور می سازد

▶ در میکروسکوپ معکوس، عدسی شیئی در زیر صفحه نمونه قرار گرفته و رو به بالا است. منبع نور و کندانسور در بالای صفحه نمونه قرار دارند و نور را به سمت پایین هدایت می کنند. مشاهده نمونه از طریق کف ظرف کشت انجام می شود

▶ برای دستیابی به تصویر برداری بهینه، کف ظرف باید با مشخصات عدسی شیئی مطابقت داشته و استانداردهای لازم را دارا باشد



میکروسکوپ ها وسایل دقیقی هستند و باید از آنها مراقبت شود. همیشه باید در موقع عدم استفاده پوشانده و خاموش شوند
میکروسکوپ ها طبق برنامه آزمایشگاه باید هر هفته تمیز و ضدعفونی شوند

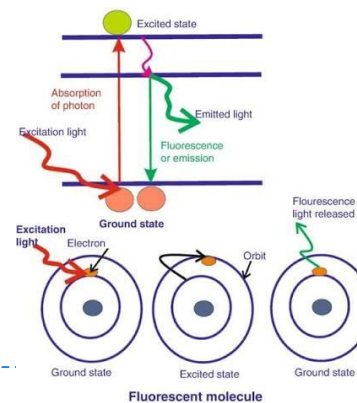
میکروسکوپ معمولی

- از میکروسکوپ های استاندارد معمولی برای کاربردهایی نظیر شمارش سلولی در آزمایشگاه های کشت سلول استفاده می شود



میکروسکوپ فلوروسنت

- در این نوع میکروسکوپ ها، نمونه با یک طول موج مشخص تحریک می شود و سپس خود نمونه نور دیگری با طول موج بلندتر منتشر می کند که به چشم و یا یک دوربین حساس می رسد
- نمونه باید واجد مولکول فلوروسنت یا fluorphore باشد
- از این نوع میکروسکوپ ها جهت بررسی لام های رنگ آمیزی شده با رنگ های فلوروسنت یا بررسی آلودگی میکوپلاسمایی استفاده می شود





سیستم های ذخیره کننده

- ▶ آزمایشگاه کشت سلول باید دارای فضاهای ذخیره سازی برای موارد زیر باشد:
 - ▶ مایعاتی مانند محیط های کشت و معرف ها
 - ▶ مواد شیمیایی مانند داروها و آنتی بیوتیک ها، اسیدها، بازها
 - ▶ اقلام مصرفی مانند پپت های یک بار مصرف، دستکش ها
 - ▶ ظروف کشت
 - ▶ تجهیزات تخصصی مانند ترازو
 - ▶ بافت ها و سلول ها
- ▶ ظروف شیشه ای، اقلام پلاستیکی و تجهیزات تخصصی را می توان در دمای محیط و روی فقسه ها یا داخل کشوها نگهداری کرد
- ▶ تمام محیط های کشت، معرف ها و مواد شیمیایی باید مطابق با دستورالعمل های درج شده روی برچسب آنها نگهداری شوند
- ▶ برخی از محیط های کشت و مواد شیمیایی به نور حساس هستند؛ اگرچه استفاده معمول از آنها در شرایط روشنایی آزمایشگاهی مشکلی ایجاد نمی کند، اما در زمان عدم استفاده باید در محیط تاریک، ظروف تیره یا پوشیده با فویل آلومینیومی نگهداری شوند
- ▶ معرف ها و محیط های کشت باید در حجم و غلظت مناسب aliquot (توزیع یا تقسیم مواد) شوند و هر ظرف لیبل گذاری شود. لیبل باید شامل نام نمونه، غلظت، مقدار و تاریخ باشد و سپس مطابق دستورالعمل نگهداری ماده مورد نظر در یخچال یا فریزر قرار گیرد (شایان ذکر است ریختن از ظرفی به ظرف دیگر به طور معمول کار خوبی در آزمایشگاه کشت سلول محسوب نمی شود ولی در مورد aliquot تمام یک بطری محیط کشت یا معرف، توزیع در ظروف کم حجم تر مورد قبول است)
- ▶ تجهیزاتی مانند ترازو باید در جایی مستقر شوند که در معرض جریان هوا یا لرزش ناشی از کار سانتریفوژ نباشند و به طور مرتب و مطابق برنامه آزمایشگاه تمیز و کالیبره شوند

- این سیستم ها شامل یخچال ها، انواع فریزرها و تانک های ازت هستند
- بیشتر محیط های کشت و معرف ها برای نگهداری نیاز به یخچال و فریزر تا 20°C دارند
- یخچال های خانگی برای آزمایشگاه های کوچک کشت سلول (ترجیحاً مدل هایی که فاقد سیستم یخ زدایی خودکار) هستند گزینه ای مناسب و کم هزینه برای نگهداری معرف ها و محیط های کشت در دمای 4°C است
- برای آزمایشگاه های بزرگتر، استفاده از اتاق سرد (سردخانه) که مختص کشت سلول باشد، مناسب تر است
- بیشتر معرف های کشت سلول مانند سرم ها، آنزیم ها، اسیدهای آمینه ضروری، آنتی بیوتیک ها را می توان در فریزر 20°C نگهداری کرد. این فریزرها برای سرد کردن اولیه سلول ها به مدت یک ساعت هم مناسب است. فریزرهای خانگی جایگزینی ارزان تر برای فریزر آزمایشگاهی است. اگرچه برخی از معرف ها می توانند نوسانات دمایی موجود در فریزرهای دارای سیستم یخ زدایی را تحمل کنند ولی برخی از مواد مانند آنتی بیوتیک ها و آنزیم ها باید در فریزرهای فاقد سیستم یخ زدایی خودکار نگهداری شوند
- از فریزرهای 80°C برای انجماد سلول ها تا ۲۴ ساعت می توان استفاده نمود. همچنین این فریزرها برای نگهداری mRNA نیز مناسب هستند
- از تانک ازت محتوی ازت مایع با دمای 196°C برای نگهداری سلول ها به مدت طولانی و داخل کرایو تیوب استفاده می شود



همیشه باید لیبل ها و مطالبی که توسط تولید کننده ها تهیه می شود را کنترل کرد تا از گرم و سرد کردن تکراری مواد و معرف ها خوداری شود

یخچال ها و فریزرها باید به طور مرتب و مطابق برنامه آزمایشگاه با شوینده های مناسب تمیز و ضدعفونی شوند

موجودی ازت تانک ازت باید به طور مرتب و مطابق برنامه آزمایشگاه کنترل شود

وسایل مصرفی (Consumables) - ظروف کشت

- ▶ برای کشت سلول از ظروف مختلفی مانند T flasks، petri dishes و multiwell plates استفاده می شود. این وسایل برای رشد و نگهداری سلول ها در یک محیط کنترل شده به کار می روند
- ▶ برای کشت های معمول از انواع T flasks و petri dish در ابعاد مختلف استفاده می شود
- ▶ پلیت های چند خانه در اندازه های ۴، ۶، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ خانه موجود هستند و برای انواع کشت ها و آزمایش ها می توانند مورد استفاده قرار گیرند



همیشه باید مشخصات سلول، تاریخ، شماره پاساژ، نوع تیمار و نام شخص آزمایش کننده در گوشه ظروف نوشته شوند (به طوری که مانع مشاهده سلول ها توسط میکروسکوپ نشوند)
ظروف مورد نظر تنها هنگام استفاده از بسته بندی خارج می شوند
درب ظروف فقط در زیر هود روشن و فعال برداشته می شود



وسایل مصرفی (Consumables) - وسایل نمونه برداری و اندازه گیری

- ▶ از انواع سمپلرهای ثابت و متغیر و پیپت ها برای اندازه گیری های معمول در آزمایشگاه کشت سلول استفاده می شود
- ▶ به طور کلی دستورالعمل های زیر می تواند به کاهش آلودگی و حفظ محیط آسپتیک در هنگام کار با وسایل نمونه برداری و اندازه گیری کمک کند:
- ▶ کلیه سمپلرهایی که به زیر هود منتقل می شوند باید با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شوند
- ▶ اگر از مواد پاک کننده برای تمیز کردن سمپلرها استفاده می شود باید اطمینان حاصل کرد که سمپلر در برابر آسیب احتمالی ناشی از این مواد مقاوم است. همچنین استفاده از سر سمپلرهای قابل اتوکلاو می تواند در ایجاد فرآیندهای کاری عاری از آلودگی مفید واقع شود
- ▶ استریل بودن سر سمپلر بسیار مهم است. هنگام اتوکلاو کردن سر سمپلر، مطمئن شوید که اتوکلاو به درستی کار می کند. اگر از سر سمپلر از پیش استریل شده استفاده می کنید، مطمئن شوید که سازنده از یک فرآیند استریلیزاسیون تایید شده و معتبر پیروی کرده است. سر سمپلرهای فیلتر دار را نباید اتوکلاو کرد زیرا فیلترهای پلی اتیلن قادر به تحمل دمای بالای اتوکلاو نیستند
- ▶ هنگام توزیع چند نمونه احتیاط کنید. در صورت عدم تعویض سر سمپلر در اینگونه موارد، احتمال زیادی وجود دارد که آلودگی نمونه قبلی به نمونه بعدی منتقل شود. بنابراین؛ برای توزیع هر نمونه جدید، سر سمپلر را تعویض کنید
- ▶ در صورت امکان از سر سمپلرهای بلند استفاده کنید. اگر سر سمپلرهای بلند را انتخاب کنید که قادر به رسیدن به کف ظرف نمونه باشند، بدنه سمپلر با ظرف تماس پیدا نمی کند و در نتیجه خطر آلودگی به حداقل می رسد. اگرچه امکان استفاده از سرسمپلرهای بلند در تمام آزمایش ها وجود ندارد. اما باید در هر موردی که مناسب است، از آنها استفاده کرد
- ▶ از انواع پیپت های استریل یک بار مصرف در کشت سلول استفاده می شود و پوشش این پیپت ها باید در زیر هود باز شود
- ▶ آلودگی ممکن است در اثر پاشش نمونه های مایع هنگام کار با پیپت یا سمپلر رخ دهد. عملیات پیپتاژ را به آرامی و با سرعت یکنواخت به ویژه در مورد مایعات غلیظ انجام دهید تا از این امر جلوگیری شود. هنگام استفاده از پرکننده الکترونیکی، باید دستگاه را با سرعت پایین تنظیم و استفاده کرد
- ▶ از جابجا کردن پیپت ها و سمپلرها از یک آزمایشگاه به آزمایشگاه دیگر یا حتی از زیر یک هود به هود دیگر باید پرهیز شود. حتماً این وسایل را علامت گذاری کنید تا از جابجایی بین بخش ها جلوگیری شود

وسایل مصرفی (Consumables) - وسایل نمونه برداری و اندازه گیری



- ▶ از اتوکلاو (autoclave) و فور یا آون برای استریلیزاسیون استفاده می شود
- ▶ برای استریلیزاسیون مرطوب آب مقطر، ظروف شیشه ای درب پیچ دار و سر سمپلرها از اتوکلاو استفاده می شود
- ▶ هنگام اتوکلاو کردن ظروف شیشه ای در آنها یک دور جهت تبادل بخار آب و برابر شدن فشار هوای داخل و خارج بطری باز گذاشته می شود
- ▶ معمولاً اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه انجام می شود
- ▶ برای استریلیزاسیون خشک وسایل فلزی مانند قیچی، پنس، اسکالپل و نظایر آنها از آون با دمای ۱۸۰ درجه سانتیگراد و به مدت یک ساعت استفاده می شود
- ▶ محیط کشت ها، معرف ها، آنزیم، و بسیاری مواد شیمیایی دیگر قابل اتوکلاو نیستند و باید توسط فیلترهای ویژه آنها را استریل نمود





مکانیسم از بین رفتن میکروارگانیسم ها در استریلیزاسیون مرطوب و خشک

- اتوکلاو از بخار آب اشباع و آون هوای خشک از هوای داغ برای استریلیزاسیون استفاده می کنند
- ▶ در اتوکلاو، آب تحت فشار گرم می شود، بنابراین بخار اشباع با دمایی بالاتر از نقطه جوش آب در فشار اتمسفر ایجاد می شود (مثلاً دمای ۱۲۱). زمان نگهداری در این دما هم بستگی به نوع اقلامی که باید استریل شوند و حجم و مقدار آنها دارد
 - ▶ در این شرایط افزایش دما باعث دناتوراسیون و غیر فعال شدن پروتئین ها می شود. افزایش دما می تواند بر پیوندهایی که ساختار سه بعدی پروتئین را حفظ می کنند، اثر گذارد (مانند پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش های یونی). در نتیجه، آنزیم های متابولیکی و پروتئین های ساختاری عملکرد خود را از دست می دهند. دناتوره شدن پروتئین ها حتی می تواند عملکرد پروتئین های غشایی و در نتیجه انتقال مواد و حفظ شیب غلظت یونی را نیز از بین ببرد. همچنین اسپورها با وجود مقاومت بیشتر نسبت به سلول ها، در حرارت مرطوب دچار آسیب های برگشت ناپذیر در پروتئین های ضروری برای جوانه زنی و رشد می شوند
 - ▶ در استریلیزاسیون خشک در آون هوای گرم، معمولاً با دمای حدود ۱۶۰ تا ۱۸۰ درجه سانتیگراد برای مدت مشخصی به وسایل منتقل می شود. در گرمای خشک، نبود رطوبت باعث می شود انتقال حرارت و آسیب رسانی به اجزای سلولی با شرایط اتوکلاو فرق داشته باشد. اکسیداسیون یکی از مکانیسم های اصلی مرگ میکروبی در گرمای خشک است. اکسیداسیون در محیط زیستی، صرفاً به معنای ترکیب شدن یک ماده با اکسیژن نیست؛ بلکه به طور دقیق به معنای از دست دادن الکترون است. در محیط های زیستی، اکسیداسیون اغلب با انتقال الکترون از مولکول های زیستی به پذیرنده های الکترونی همراه است. بنابراین، در دمای بالا، واکنش های شیمیایی منجر به تغییر و تخریب مولکول های زیستی از جمله، پروتئین ها، لیپیدهای غشایی و اسیدهای نوکلئیک می شود (توجه کنید که پروتئین ها در گرمای خشک نیز می توانند دناتوره و غیرفعال شوند؛ بنابراین نباید تصور کرد که دناتوراسیون فقط در گرمای مرطوب رخ می دهد. تفاوت این است که آب در گرمای مرطوب به بی ثبات شدن ساختار پروتئین های کمک می کند و معمولاً غیر فعال سازی موثر در دمای پایین تری صورت می گیرد)
 - ▶ در آون نیاز به حرارت بیشتری نسبت به اتوکلاو است زیرا: ۱) هوا در مقایسه با بخار اشباع، انرژی کمتری را در شرایط معمول به سرعت به سطح وسایل منتقل می کند؛ ۲) آب به ناپایداری پروتئین ها و تسریع غیر فعال سازی حرارتی کمک می کند، این اثر تسهیل کننده در گرمای خشک وجود ندارد؛ ۳) اسپورها می توانند در محیط خشک مقاومت قابل توجهی نشان دهند؛ بنابراین باید دما و زمان کافی برای رسیدن به سطح مورد نیاز استریلیزاسیون فراهم شود