



دانشکده علوم و فن آوری های زیستی
آزمایشگاه کشت سلول

اصول کار در آزمایشگاه کشت سلول (Cell Culture Laboratory Principles)

ارائه کننده: شیرین کشفی

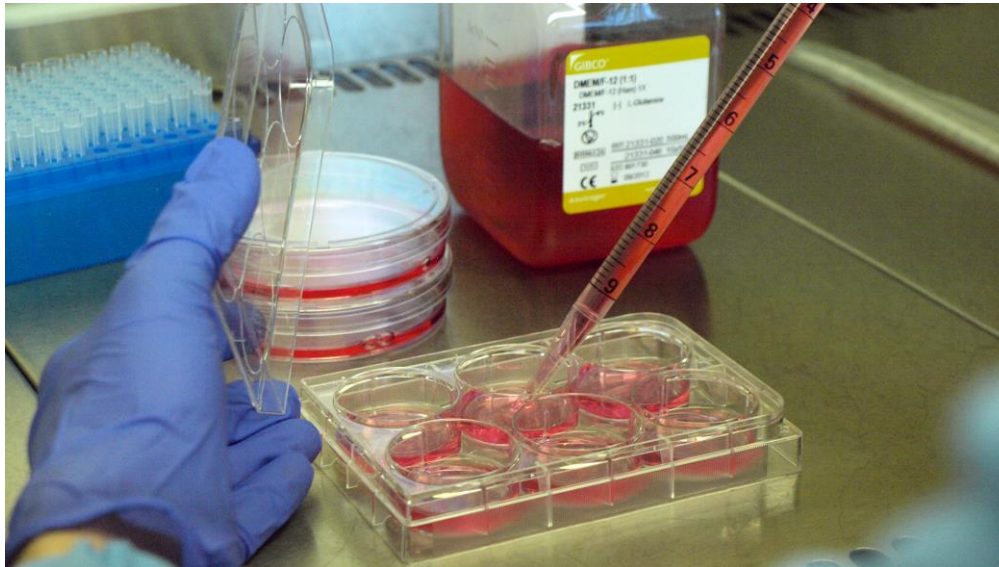
دکتری تکوین جانوری

sh.kashfi@staf.ui.ac.ir



کشت سلول (cell Culture) چیست؟

- ▶ کشت سلول به فرآیند جدا کردن سلول ها از یک جانور یا گیاه و سپس رشد آنها در محیطی مصنوعی، مساعد و کنترل شده اطلاق می شود
- ▶ سلول ها ممکن است پیش از کشت، مستقیماً از بافت جدا و به روش آنزیمی یا مکانیکی از یکدیگر تفکیک شوند، و یا از یک رده سلولی (cell line) یا سویه سلولی (cell strain) که پیش تر ایجاد شده است، به دست آیند
- ▶ کشت سلول شامل طیفی از تکنیک هاست که رشد آزمایشگاهی سلول ها، چه با منشأ جانوری و چه گیاهی را تسهیل می کند



▶ کشت سلول یکی از ابزارهای اصلی در زیست شناسی سلولی و مولکولی است که سیستم های مدل بسیار مناسبی را برای مطالعه فیزیولوژی و بیوشیمی طبیعی سلول ها (مانند مطالعات متابولیک و پیری)، بررسی اثرات داروها و ترکیبات سمی بر سلول ها، و همچنین مطالعه جهش زایی و سرطان زایی فراهم می آورد. این روش همچنین در غربالگری و توسعه دارو و تولید انبوه ترکیبات زیستی (مانند واکسن ها و پروتئین های درمانی) کاربرد دارد. به طور کلی این تکنیک به پژوهشگران امکان می دهد تا رفتار، عملکرد و تعاملات سلولی را در شرایطی مطالعه کنند که تاحد زیادی مشابه شرایط موجود در بدن انسان، جانور یا گیاه است

▶ مزیت عمده استفاده از کشت سلول در هر یک از این کاربردها، ثبات و تکرارپذیری نتایجی است که با استفاده از یک سری سلول های کلونال (هم تبار) به دست می آید



کشت سلول (cell Culture) چیست؟

▶ سلول های مورد استفاده در آزمایشگاه کشت سلول می توان به دو گروه کلی تقسیم کرد:

کشت اولیه (Primary Culture)

▶ سلول هایی که مستقیماً از یک بافت یا اندام جدا شده اند و برای مدت محدودی تحت شرایط مناسب نگهداری می شوند. این سلول ها معمولاً شباهت بیشتری به وضعیت طبیعی بافت دارند، اما ظرفیت تکثیر آنها محدود تر است

رده سلولی (cell line)

▶ پس از نخستین مرحله پاساژ یا کشت مجدد (subculture)، کشت اولیه به عنوان رده سلولی شناخته می شود. رده های سلولی حاصل از کشت های اولیه طول عمر محدودی دارند (یعنی عمر آنها پایان پذیر است) و با انجام مراحل کشت مجدد، سلول هایی که بیشترین توان رشد را دارند غالب می شوند؛ این امر منجر به نوعی یکدستی ژنوتیپی و فنوتیپی در جمعیت سلولی می گردد. بنابراین، امکان نگهداری و تکثیر رده های سلولی در آزمایشگاه وجود دارد. البته برخی از رده های سلولی ظرفیت تکثیر محدودی دارند و برخی دیگر می توانند برای مدت بسیار طولانی تکثیر شوند



اگر زیرجمعیتی از یک رده سلولی از طریق روش‌هایی مانند کلون‌سازی یا روش‌های دیگر از محیط کشت جدا و انتخاب شود، آن رده سلولی به یک سویه سلولی بدل می‌گردد. سویه سلولی اغلب پس از شکل‌گیری رده سلولی والد، دچار تغییرات ژنتیکی بیشتری می‌شود



ضد عفونی کردن (Disinfection)، استریل کردن (sterilization)، تکنیک های آسپتیک (Aseptic Techniques)

- ▶ ضد عفونی کردن فرآیندی است که هدف آن کاهش یا حذف بسیاری از میکروارگانیسم ها از روی یک سطح است. در ضد عفونی کردن معمولاً هدف این نیست که سطح به طور مطلق استریل شود؛ بلکه می خواهیم بار میکروبی و میکروارگانیسم های قابل انتقال را به میزان مؤثر کاهش دهیم. به طور مثال، ضد عفونی کردن سطح کار با یک ماده ضد عفونی کننده مناسب
- ▶ استریل کردن فرآیندی برای از بین بردن میکروارگانیسم ها است. در طی این عمل خود ماده یا وسیله را استریل می کنیم. به طور مثال، می توان برخی وسایل و یا محلول ها را اتوکلاو کرد یا برخی محلول های حساس به حرارت را از فیلتر مناسب عبور داد
- ▶ تکنیک آسپتیک مجموعه ای از اصول و روش های کاری است که با هدف جلوگیری از ورود، انتقال و گسترش آلودگی های میکروبی در هنگام کار با سلول ها، محیط کشت، ظروف و تجهیزات آزمایشگاهی به کار می رود. توجه داشته باشید که آسپتیک به معنای کاملاً استریل بودن همه چیز نیست، بلکه سعی می شود تا چیزی که استریل شده دوباره آلوده نشود
- ▶ در کشت سلول، هدف فقط تمیز بودن محیط نیست؛ بلکه باید هنگام تمام مراحل کار، احتمال تماس کشت سلول با عوامل آلوده کننده به حداقل برسد



اهمیت تکنیک های آسپتیک در کشت سلول

▶ سلول های کشت شده معمولاً به شرایط بسیار کنترل شده ای برای رشد نیاز دارند و در برابر بسیاری از عوامل محیطی آسیب پذیر هستند. یک آلودگی کوچک می تواند:

- ▶ باعث تغییر مورفولوژی سلول ها شود
 - ▶ سرعت رشد سلول ها را تغییر دهد
 - ▶ باعث کاهش زنده مانی (viability) شود
 - ▶ ترکیب و ویژگی های محیط کشت را تغییر دهد
 - ▶ باعث از دست رفتن یک کشت سلولی ارزشمند شود
 - ▶ به سایر کشت های موجود در آزمایشگاه منتقل شود
- ▶ بنابراین، پیشگیری از آلودگی بسیار ساده تر و قابل اعتمادتر از تلاش برای نجات یک کشت آلوده است



منابع احتمالی آلودگی

- ▶ برای درک تکنیک های آسپتیک، ابتدا باید بدانیم آلودگی از کجا می تواند وارد سیستم کشت سلول شود؟

الف) فرد کاربر

- ▶ خود فرد یکی از مهمترین منابع بالقوه آلودگی است. منابع احتمالی عبارتند از پوست و دست ها، لباس و مو، صحبت کردن، عطسه و سرفه، دستکش آلوده، تماس دستکش با سطوح غیر استریل. به همین دلیل، رفتار فرد هنگام کار بخش مهمی از تکنیک آسپتیک است

ب) محیط آزمایشگاه

- ▶ گرد و غبار، ذرات معلق و میکروارگانیسم های موجود در محیط می توانند در صورت رعایت نکردن اصول کار وارد سیستم کشت شوند

ج) تجهیزات

- ▶ سطوح داخلی یا خارجی تجهیزات، انکوباتور، هود، میکروسکوپ، وسایل اندازه گیری (ترازو، پیپت، سمپلر، استوانه مدرج، بالون و...) و ظروف کشت در صوت نظافت و نگهداری نامناسب، می توانند منبع آلودگی باشند

د) مواد و محلول ها

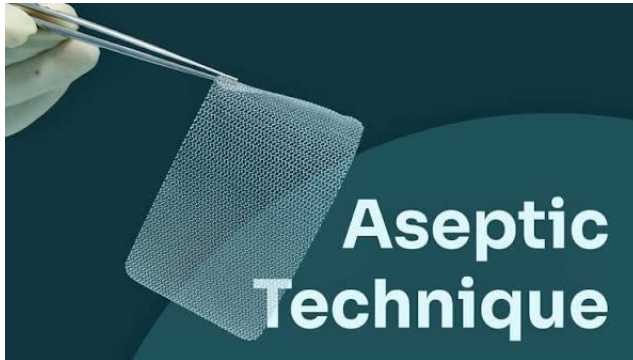
- ▶ محیط کشت، سرم، محلول ها و سایر مواد مصرفی در صورت نگهداری یا استفاده نادرست می توانند باعث آلودگی شوند

ه) سایر کشت های سلولی

- ▶ یکی از خطرات مهم، آلودگی متقاطع (Cross Contamination) است، یعنی انتقال سلول یا عامل آلوده کننده از یک کشت به کشت دیگر



ارکان اصلی تکنیک آسپتیک



▶ ارکان اصلی تکنیک آسپتیک عبارتند از:

- ▶ فضای کاری استریل
- ▶ رعایت بهداشت فردی مناسب
- ▶ استفاده از مواد و محیط های کشت استریل
- ▶ انجام عملیات به شیوه ای استریل

▶ به خاطر داشته باشید روش های عاری از آلودگی یا آستپتیک از زمانی شروع می شود که فرد می خواهد وارد محیط کار شود، نه زمانی که کار با سلول را آغاز می کند. رفتار فرد، لباس، دست ها، وسایل شخصی، و حتی نحوه جابجایی در آزمایشگاه می تواند بر احتمال آلودگی اثر بگذارد



فضای کاری استریل

- ▶ ساده ترین و مقرون به صرفه ترین روش برای کاهش آلودگی ناشی از ذرات معلق در هوا و آئروسول ها (مانند گرد و غبار، هاگ ها، ذرات پوست و قطرات ناشی از عطسه) استفاده از هود کشت سلول است
- ▶ هود کشت سلول باید به درستی نصب و راه اندازی شود و در مکانی اختصاصی برای کشت سلول قرار گیرد؛ یعنی مکانی که به دور از جریان هوای ناشی از درها، پنجره ها و سایر تجهیزات بوده و محل تردد افراد نباشد
- ▶ سطح کار باید خلوت باشد و تنها شامل اقلام مورد نیاز برای یک فرآیند خاص باشد؛ از این جهت نباید به عنوان محل نگهداری وسایل از هود استفاده کرد
- ▶ سطح کار باید پیش و پس از استفاده به طور کامل ضدعفونی شود و سطوح و تجهیزات پیرامونی نیز به صورت منظم تمیز شوند
- ▶ برای نظافت معمول، سطح کار پیش از شروع و در حین کار (به ویژه پس از هر گونه ریختن مواد) با اتانول ۷۰ درصد پاک شود
- ▶ می توان در فواصل بین دفعات استفاده، از اشعه فرابنفش (UV) برای استریل کردن هوا و سطوح در معرض دید داخل هود کشت سلول استفاده کرد
- ▶ هود کشت سلول باید در حین کار همواره روشن نگهداشته شود و تنها زمانی خاموش گردد که کار پایان یافته است و یا برای مدتی طولانی مورد استفاده قرار نمی گیرد
- ▶ استفاده از شعله در هود کشت سلول نه ضروری است و نه توصیه می شود

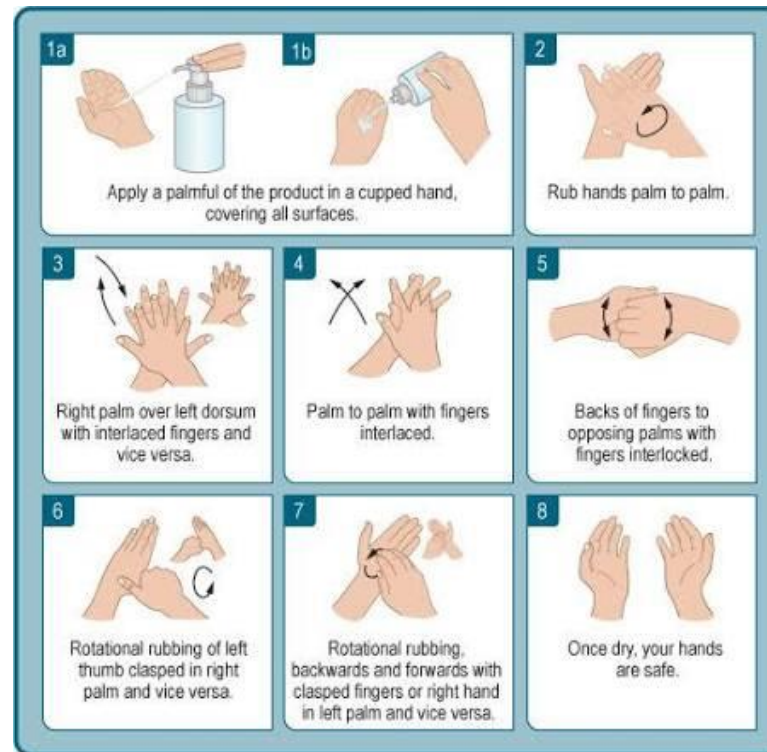




بهداشت فردی مناسب

به نکات زیر توجه کنید:

- ▶ پیش از شروع کار باید لباس مناسب آزمایشگاه پوشیده شود. فلور طبیعی بدن منبع اصلی آلودگی محیط کشت ها است. برای اجتناب از آلودگی های ناخواسته مانند وجود گرد و غبار روی لباس ها باید قبل از ورود به آزمایشگاه و کار با هود روپوش آزمایشگاهی تمیز پوشیده شود
- ▶ شستشوی درست دست ها اهمیت زیادی دارد. پیش از کار با کشت های سلولی و پس از آن دست ها باید به خوبی و با روش درست شسته شوند





بهداشت فردی مناسب

- ▶ پس شستشوی دست ها، در صورت نیاز، دستکش باید به گونه ای پوشیده شود که با سطوح غیرضروری تماس پیدا نکند.
- ▶ **نکته مهم:** پوشیدن دستکش به معنی استریل بودن دستکش نیست. دستکش نیز می تواند منبع انتقال آلودگی باشد
- ▶ مچ و ساعد دست هم باید کاملاً پوشیده باشد. به همین منظور می توان روی آستین روپوش آزمایشگاهی، می توان آستین قابل اتوکلاو و جدا کشید
- ▶ دهان و بینی باید با ماسک پوشیده شود
- ▶ موهای بلند باید جمع شوند و زیورآلات غیرضروری که ممکن است با سطوح تماس پیدا کنند، کنار گذاشته شوند
- ▶ در صورت لزوم باید از عینک محافظ استفاده نمود





انجام عملیات به شیوه استریل

- ▶ مواد و محیط های کشت تجاری تحت کنترل کیفی دقیق قرار می گیرند تا از استریل بودن آنها اطمینان حاصل شود، اما ممکن است هنگام کار با آنها دچار آلودگی شوند.
- ▶ هر گونه معرف، محیط کشت یا محلولی که در آزمایشگاه تهیه می شوند باید با استفاده از روش مناسب استریلیزاسیون (مانند اتوکلاو یا استفاده از فیلتر استریل) کاملاً استریل شوند
- ▶ برای جلوگیری از آلوده شدن این مواد، دستورالعمل های دقیقی طراحی شده اند که باید رعایت شوند
- ▶ تاریخ انقضا، نام ماده، شرایط نگهداری و سلامت بسته بندی باید از قبل کنترل شود
- ▶ در صورت مشاهده نشانه های غیرطبیعی مانند نشتی، ترک، تغییر رنگ، کدورت یا آسیب بسته بندی نباید ماده را وارد فرآیند کشت کرد
- ▶ هر ماده یا محلول باید در فضای هود باز شود؛ بنابراین قبل از آن باید مطمئن شد که هود تمیز، ضدعفونی و آماده کار است
- ▶ قبل از انتقال ظروف محتوی مواد و محلول های مختلف سطوح خارجی آنها باید با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و سپس به زیر هود منتقل شوند
- ▶ تمام ظروفی که برای اندازه گیری به کار می روند باید کاملاً و از قبل استریل شده باشند و باز کردن پوشش های اطراف آنها باید زیر هود انجام گیرد. پیت یا سمپلر با نوک مناسب از قبل آماده شوند
- ▶ مشخص کنید قرار است چه مقدار از محیط یا ماده برداشته شود
- ▶ مسیر دست و محل قرار گرفتن ظرف مشخص باشد
- ▶ به طور کلی هدف این است که ظرف استریل در کمترین زمان ممکن باز باشد؛ پس دستورالعمل زیر را به خاطر داشته باشید:

اول آماده کن، بعد باز کن



انجام عملیات به شیوه استریل

- ▶ اگر درپوش ظرفی را برمی دارید آن را روی سطح آلوده قرار ندهید و سطح داخلی درپوش را به سمت پایین (یعنی به سمت سطح میز) قرار دهید
- ▶ از تماس قسمت داخلی دهانه ظروف با دست یا وسایل غیر استریل جلوگیری کنید
- ▶ پس از پایان کار، درب ظروف را بدون تأخیر ببندید
- ▶ از باز کردن همزمان چندین ظرف و رها کردن آنها روی سطح کار خودداری کنید. هر ظرف غیر ضروری یک فرصت اضافی برای آلودگی است
- ▶ اگر در مورد استریل بودن هر وسیله یا ماده ای شک دارید، آن را آلوده در نظر بگیرید. نباید صرفاً به امید اینکه "احتمالاً چیزی نشده" کار را ادامه داد
- ▶ هر گونه حادثه ای را که ممکن است منجر به مواجهه با مواد عفونی شوند، به افراد مسئول (مانند سرپرست آزمایشگاه یا مسئول ایمنی) گزارش دهید
- ▶ اگر آلودگی رخ داده باید آن را ثبت و طبق پروتکل های آزمایشگاه مدیریت شود (یعنی تصمیم گرفت که وسیله تعویض، دور انداخته یا فرایند مربوطه تکرار شود)





انجام عملیات به شیوه استریل

پنج قانون طلایی هنگام باز کردن مواد و محلول های مورد نیاز برای کشت سلول را به خاطر بسپارید

آماده باش
(prepare)

کوتاه باز کن
(minimize exposure)

لمس نکن
(don't touch sterile
surface)

تمیز و آلوده را جدا کن
(separate clean and
contaminant items)

شک کردی، استفاده نکن
(when in doubt,
don't use)



انجام عملیات به شیوه استریل

- ▶ از صحبت کردن، سرفه، عطسه و تنفس در فضای کارد خود خودداری کنید. برای سرفه و عطسه به عقب بچرخید و داخل قسمت بالای بازوی خود سرفه یا عطسه کنید
- ▶ تعداد دفعات ورود و خروج به آزمایشگاه باید به حداقل رسانده شود تا جریان هوا مختل نشود
- ▶ از خوردن، آشامیدن، سیگار کشیدن، لمس لنزهای تماسی، استفاده از لوازم آرایشی یا نگهداری مواد غذایی برای مصرف انسان در آزمایشگاه خودداری کنید
- ▶ تجهیزات آزمایشگاهی را به طور مرتب تمیز کنید، حتی اگر آلوده نشده باشند
- ▶ از سیاست‌های موسسه در مورد جابجایی ایمن وسایل تیز (مانند سوزن، چاقوی جراحی، pipette و ظروف شیشه‌ای شکسته) پیروی کنید
- ▶ تمام کشت‌ها، ذخایر و سایر مواد بالقوه عفونی را پیش از دور ریختن، ضد عفونی کنید
- ▶ قبل از خروج از آزمایشگاه، وسایل، مواد و نمونه‌ها باید در وضعیت مناسب قرار گیرند، سطوح کار پاک‌سازی شوند، پسماندها در ظروف مناسب قرار گیرند، دستکش‌ها به طور صحیح خارج شوند و دست‌ها شسته شوند



آلودگی ها (Contaminations)

- ▶ آلودگی کشت های سلولی بی تردید رایج ترین مشکلی است که در آزمایشگاه های کشت سلول با آن مواجه می شویم و گاهی پیامدهای بسیار جدی به همراه دارد. آلاینده های کشت سلول را می توان به دو دسته اصلی تقسیم کرد:
 - ▶ آلاینده های شیمیایی: مانند ناخالصی های موجود در محیط کشت، سرم ها و آب و همچنین اندوتوکسین ها، نرم کننده های پلاستیک و شوینده ها
 - ▶ آلاینده های بیولوژیکی: مانند باکتری ها، کپک ها، مخمرها، ویروس ها، مایکوپلاسما و نیز آلودگی متقاطع ناشی از سایر رده های سلولی
- ❖ اگر چه حذف کامل آلودگی غیر ممکن است، اما می توان با شناخت دقیق منابع آن و رعایت صحیح اصول تکنیک های آسپتیک (استریل) از دفعات وقوع و شدت آن کاست



▶ باکتری ها گروهی بزرگ و همه جا حاضر از میکروارگانیسم های تک سلولی هستند. قطر آنها معمولاً چند میکرومتر است و می توانند اشکال گوناگونی داشته باشند که عبارتند از: کروی، میله ای و مارپیچی

▶ به دلیل فراوانی، اندازه و سرعت رشد بالای باکتری ها، این موجودات (به همراه مخمرها و کپک ها) رایج ترین آلاینده های بیولوژیکی در کشت سلول محسوب می شوند. آلودگی باکتریایی را می توان به سادگی و با مشاهده چشمی محیط کشت، ظرف چند روز پس از بروز آلودگی تشخیص داد؛ کشت های آلوده معمولاً کدر (تار) به نظر می رسند و گاهی لایه ای نازک روی سطح آنها تشکیل می شود. افت ناگهانی pH محیط کشت نیز اغلب مشاهده می شود. زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی کم، باکتری ها به صورت ذرات ریز و متحرک در میان سلول ها دیده می شوند و مشاهده میکروسکوپ با بزرگنمایی بالا امکان تشخیص شکل تک تک باکتری ها را فراهم می کند

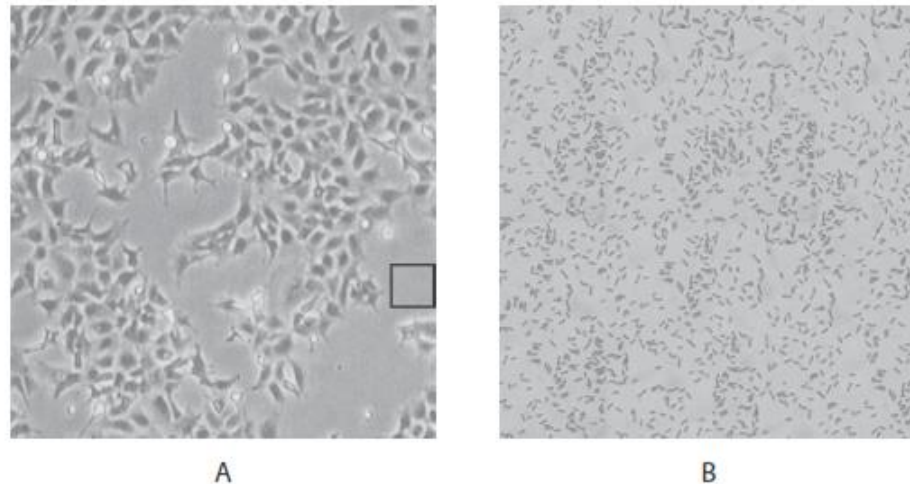
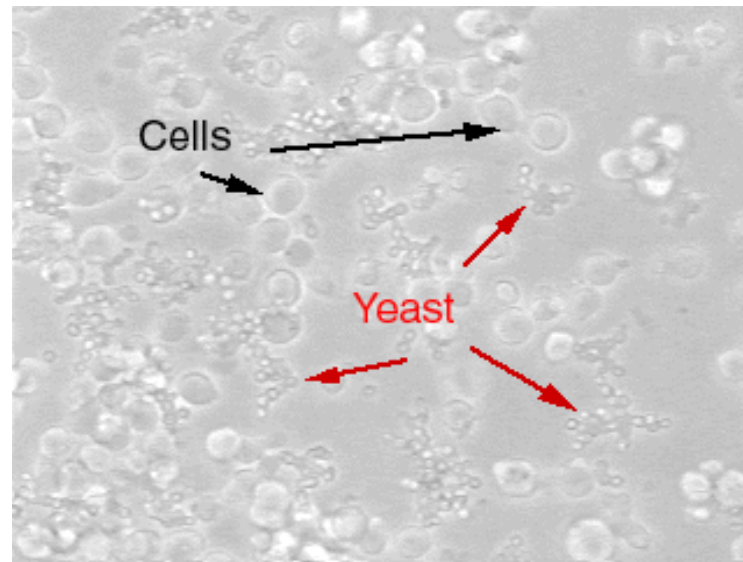


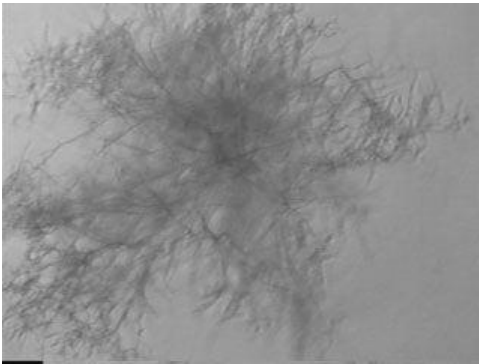
Figure 2.2. Simulated phase contrast images of adherent 293 cells contaminated with *E. coli*. The spaces between the adherent cells show tiny, shimmering granules under low power microscopy, but the individual bacteria are not easily distinguishable (panel A). Further magnification of the area enclosed by the black square resolves the individual *E. coli* cells, which are typically rod-shaped and are about 2 μm long and 0.5 μm in diameter. Each side of the black square in panel A is 100 μm .

- ▶ مخمرها، میکروارگانیسم های یوکاریوتی تک سلولی از فرمانرو قارچ ها هستند که اندازه آنها معمولاً از چند میکرومتر تا به ندرت ۴۰ میکرومتر متغیر است
- ▶ همانند آلودگی باکتریایی، کشت های آلوده به مخمر نیز کدر می شوند، به ویژه اگر آلودگی در مرحله پیشرفته ای باشد. تا زمانی که شدت آلودگی به مخمر زیاد نشود، تغییر چندانی در pH محیط کشت رخ نمی دهد؛ اما در مرحله آلودگی شدید pH معمولاً افزایش می یابد
- ▶ در زیر میکروسکوپ، مخمرها به شکل ذرات منفرد بیضی شکل یا کروی دیده می شوند که ممکن است ذرات کوچک تری از طریق جوانه زدن از آنها جدا شود





کپک ها (Molds)



- ▶ کپک ها میکروارگانیسم های یوکاریوتی از فرمانروی قارچ ها هستند که به صورت رشته های چند سلولی موسوم به هیف رشد می کنند. شبکه به هم پیوسته ای از این رشته های چند سلولی که حاوی هسته هایی با ژنتیک یکسان است، کلونی یا میسلیوم (mycelium) نامیده می شود
- ▶ مشابه آلودگی با مخمر، pH محیط کشت در مراحل اولیه آلودگی ثابت می ماند، اما با تشدید آلودگی و کدر شدن محیط کشت، به سرعت افزایش می یابد
- ▶ در بررسی میکروسکوپی ، میسلیوم ها معمولاً به شکل رشته های نازک و ظریف و گاهی به صورت توده های متراکم تری از اسپورها دیده می شوند. اسپورهای بسیاری از گونه های کپک می توانند در مرحله خفتگی، شرایط محیطی بسیار سخت و نامساعد را تاب آورند و تنها زمانی که با شرایط مناسب برای رشد مواجه شوند، فعال گردند



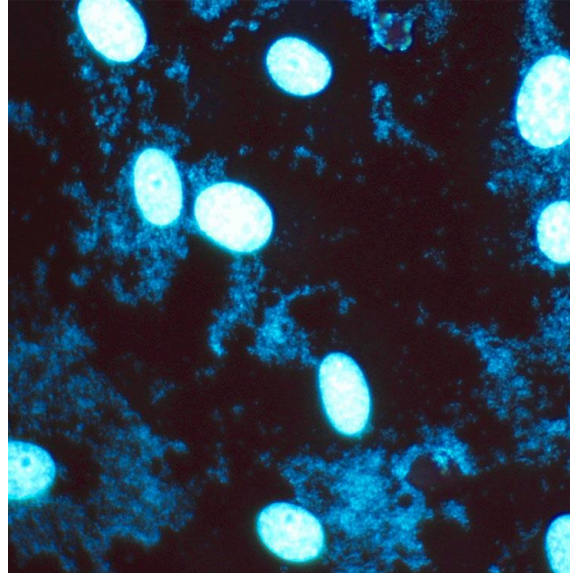
ویروس ها (Viruses)

- ▶ ویروس ها عوامل عفونی میکروسکوپی هستند که برای تکثیر، سیستم سلول های میزبان را به دست می گیرند
- ❖ اندازه بسیار بسیار کوچک آنها، تشخیص آنها در کشت و حذف آنها از معرف های مورد استفاده در آزمایشگاه های کشت سلولی را بسیار دشوار می کند. از آنجا که اکثر ویروس ها الزامات بسیار دقیقی برای میزبان خود دارند، معمولاً بر کشت های سلولی گونه های غیر از میزبان خود تأثیر منفی نمی گذارند. با این حال، استفاده از کشت های سلولی آلوده به ویروس می تواند خطرات جدی برای سلامتی پرسنل آزمایشگاه ایجاد کند، به ویژه اگر سلول های انسان یا نخستی ها در آزمایشگاه کشت داده شوند
- ❖ عفونت ویروسی کشت های سلولی را می توان با میکروسکوپ الکترونی، رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی یا مجموعه ای از آنتی بادی ها، سنجش های ELISA، یا PCR با پرایمرهای ویروسی مناسب تشخیص داد



مایکوپلازما (Mycoplasma)

- ▶ مایکوپلازما ها باکتری های ساده ای هستند که فاقد دیواره سلولی بوده و کوچکترین موجود زنده با قابلیت تکثیر مستقل محسوب می شوند. به دلیل اندازه بسیار کوچک (معمولاً کمتر از یک میکرومتر)، تشخیص مایکوپلازماها بسیار دشوار است؛ مگر اینکه تراکم آنها به شدت افزایش یابد و موجب تخریب کشت سلولی شود، زیرا تا پیش از آن مرحله اغلب هیچ نشانه ظاهری از آلودگی وجود ندارد
- ▶ برخی از انواع مایکوپلازماها که رشد کندی دارند، ممکن است بدون ایجاد مرگ سلولی در محیط کشت باقی بمانند، اما قادرند رفتار و متابولیسم سلول های میزبان را در محیط کشت تغییر دهند
- ▶ عفونت های مزمن مایکوپلازما ممکن است خود را به صورت کاهش سرعت تکثیر سلولی، کاهش تراکم اشباع و تجمع (آگلوتیناسیون) سلول ها در کشت های سوسپانسیونی نشان دهند. با این حال، تنها روش قطعی برای تشخیص آلودگی با مایکوپلازما، بررسی دوره ای کشت ها با استفاده از روش هایی نظیر رنگ آمیزی فلورسنت مانند Hoechst 33258، Elisa، PCR، immunostaining، یا آزمون های میکروبیولوژیک است



آلودگی متقابل (Cross Contamination)

- ▶ اگرچه آلودگی متقابل گسترده بسیاری از رده های سلولی با سلول های Hela و سایر رده های سلولی با رشد سریع به اندازه آلودگی میکروبی شایع نیست اما مشکلی کاملاً اثبات شده با پیامدهای جدی محسوب می شود
- ▶ تهیه رده های سلولی از بانک های سلولی معتبر، بررسی دوره ای ویژگی های رده های سلولی و رعایت دقیق اصول آسپتیک (شرایط عاری از آلودگی) اقداماتی هستند که به پیشگیری از آلودگی متقابل کمک می کنند
- ❖ روش انگشت نگاری DNA، آنالیز کاریوتایپ و آنالیز ایزوتایپ می توانند وجود یا عدم وجود آلودگی متقابل را در کشت های سلولی تأیید کنند

