

ملاحظات کلی و مشترک مطالعات این شماره

۱. مقدمه مشترک:

در قرن حاضر، ماهیت شعور و جایگاه آن در دنیای علم، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. تئوری‌های فلسفی و علمی زیادی در این زمینه ارائه شده است. در دهه ۱۹۸۰، محمد علی طاهری، میدان‌های جدیدی با ماهیت غیرمادی و غیرانرژیایی معرفی کرده است که میدان‌های شعوری طاهری (TCFs) نامیده می‌شوند. در این دیدگاه، T-Consciousness یکی از سه عنصر موجود در جهان هستی به جز ماده و انرژی است.

بر اساس این تئوری، میدان‌های شعوری (ط) متنوع با عملکردهای مختلفی وجود دارد که زیرمجموعه‌ی شبکه اینترنت کیهانی به نام شبکه شعور کیهانی یا CCN هستند. تفاوت عمده بین تئوری میدان‌های شعوری (ط) با دیگر مفاهیم تئوری ارائه شده در رابطه با شعور، کاربرد و استفاده عملی از میدان‌های شعوری (ط) است. این میدان‌ها قابل اعمال بر همه موجودات زنده و غیر زنده از قبیل انسانها، گیاهان، حیوانات، میکروارگانیسم‌ها، مواد و غیره هستند.

علم جدید ساینس‌فکت در سال ۲۰۲۰ توسط محمدعلی طاهری، بنیانگذار مکتب عرفان کیهانی حلقه به عنوان یکی از زیر مجموعه‌های این مکتب، معرفی شده است. نام «ساینس‌فکت»، به این دلیل انتخاب شده است که از تحقیقات علمی به منظور تایید وجود شعور (ط) به عنوان یک «وجود مسلم» (فکت) استفاده می‌کند. اگرچه علم رایج، صرفاً مطالعه ماده و انرژی را مدنظر دارد و در مقابل، ساینس‌فکت اثرات میدان‌های شعوری (ط) (غیرمادی و غیر انرژیایی) را کاوش می‌کند؛ اما، ساینس‌فکت با انجام تحقیقات آزمایشگاهی تکرار پذیر در حوزه‌های مختلف علم، زمینه مشترکی را بین این دو پدیدار نموده و از این قابلیت به منظور اثبات «شعور (ط)» و «میدان‌های شعوری (ط)» ناشی از آن، استفاده کرده است.

اثرگذاری میدان‌های شعوری (ط) با اتصال (Etesal) بین شبکه‌ی شعور کیهانی به عنوان شعور کل و موضوع مورد مطالعه به عنوان جزء آغاز می‌شود. اتصال توسط ذهن فرادمانگر (فرد آموزش دیده‌ای که میدان‌های شعوری (ط) به او تفویض شده است) برقرار می‌گردد. ذهن انسان نقشی واسط (اعلام کننده) را دارد که با یک توجه کوتاه و آنی به موضوع مورد مطالعه عمل کرده و دستاورد اصلی، در نتیجه اثرات میدان‌های شعوری (ط) حاصل می‌شود. این میدان‌ها مستقیماً قابل اندازه‌گیری توسط علم نیستند، اما می‌توان اثرات آنها را بر موضوعات مختلف از طریق آزمایش‌های تکرارپذیر بررسی کرد.

۲. روش‌شناسی تحقیقات میدان‌های شعوری طاهری:

پایه‌ریزی تحقیقات اولیه «شعور (ط)» بر اساس سلسله مراتب فرض، حکم و برهان صورت گرفته که در آن، فرض اولیه: شکل‌گیری کیهان از جزء سومی متفاوت از ماده و انرژی به نام «شعور (ط)» است، حکم: وجود «شعور (ط)» (میدان‌های شعوری (ط)) می‌تواند توسط اثراتش بر روی ماده و انرژی (مانند انسان، حیوان، گیاه، میکروارگانیسم، سلول‌ها، مواد و غیره) اثبات شود، برهان: تایید علمی اثرات میدان‌های شعوری (ط) بر ماده و انرژی (مطابق حکم تعیین شده) است که از طریق انجام آزمایش‌های علمی تکرار پذیر مختلف انجام می‌شود.

۳. فازهای مطالعاتی در علم ساینس‌فکت

با هدف اثبات وجود، اثربخشی و مکانیسم میدان‌های شعوری (ط) و تحلیل‌های آن، فازهای تحقیقاتی صفر تا چهار و اهداف هر کدام در این راستا به شرح زیر تعریف می‌گردد:

هدف تحقیقات در فاز صفر: اثبات وجود میدان‌های شعوری (ط) با مشاهده اثرات آنها است. در این فاز به ماهیت و چیستی شعور (ط) پرداخته نخواهد شد.

فاز اول: به بررسی تنوع اثرگذاری میدان‌های شعوری (ط) ناشی از «شعور (ط)» می‌پردازد.

فاز دوم: چرایی تنوع اثرگذاری میدان‌های شعوری (ط) را بررسی می‌کند.

فاز سوم: بررسی مکانیسم اثرات میدان‌های شعوری بر ماده و انرژی را به عهده دارد.

فاز چهارم: نتیجه‌گیری‌های کلان به ویژه در ارتباط با ذهن و حافظه ماده و ارتباط آن با «شعور (ط)» و غیره صورت خواهد گرفت.

۴. روش‌های تجربی مطالعات:

۴.۱. به کارگیری میدان‌های شعوری طاهری

نمونه‌های مورد مطالعه تحت تاثیر میدان‌های شعوری (ط) بر اساس پروتکل مشخص شده در وب سایت مدیریت تحقیقات میدان‌های شعوری (ط) قرار گرفتند. درخواست اتصال به شبکه‌ی شعور کیهانی برای استفاده از میدان‌های شعوری (ط) را می‌توان از طریق وب سایت COSMOIntel در بخش مربوط به «اعلام نظر» قرار داد. این دسترسی برای همه‌ی افراد بطور رایگان امکان پذیر است. به منظور تجربه میدان‌های شعوری (ط) و انجام پژوهش در این زمینه، در هر زمانی، محققین می‌توانند در این وب سایت ثبت نام کنند. جزئیات دقیقی از آزمایش لازم است در اختیار مرکز تحقیقاتی قرار بگیرد، به عنوان مثال، شماره و نام نمونه‌ها و کنترل

۴.۲ کشت سلول

رده‌های سلولی این مطالعات، از انسیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط کشت Roswell Park Memorial Institute 1640-1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی، 100 IU (Gibco Laboratories, Grand Island, NY) در میلی لیتر پنی سیلین و ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر استرپتومایسین کشت شد. کشت ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد (Schwabach, Memmert، آلمان) با ۵٪ CO₂ و اتمسفر مرطوب نگهداری شدند. رطوبت نسبی بین ۹۸ و ۹۵ درصد با سیستم اتومایزر یا مخزن آب ثابت نگهداشته شد. در تمام مراحل آزمایشی، سلول‌ها در فاز رشد لگاریتمی مورد استفاده قرار گرفتند.



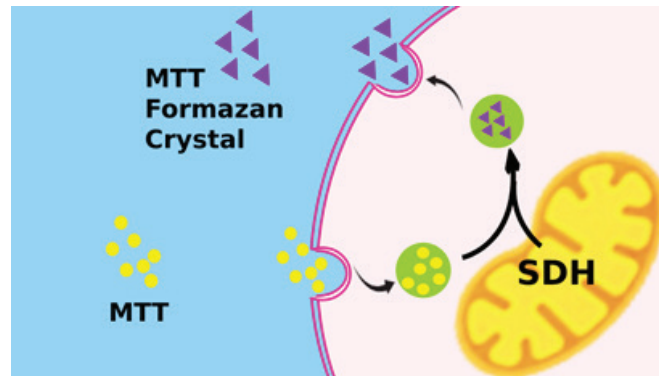
کشت سلولی به روش‌های آزمایشگاهی اطلاق می‌شود که امکان رشد سلول‌های یوکاریوتی یا پروکاریوتی را در شرایط فیزیولوژیک آزمایشگاهی فراهم می‌کند. منشأ آن به اوایل قرن بیستم بر می‌گردد، زمانی که برای مطالعه رشد و بلوغ بافت، زیست‌شناسی ویروس و توسعه واکسن، نقش ژن‌ها در بیماری و سلامت و استفاده از رده‌های سلولی هیبریدی در مقیاس بزرگ برای تولید داروهای زیستی معرفی شد. کاربردهای تجربی سلول‌های کشت‌شده به اندازه انواع سلول‌هایی است که می‌توانند در شرایط آزمایشگاهی رشد کنند. در زمینه بالینی، کشت سلولی در ایجاد سیستم‌های مدل مطالعه‌ی زیست‌شناسی سلولی پایه، بررسی مکانیسم بیماری‌ها و سمیت ترکیبات دارویی جدید کاربرد دارد.

Segeritz, C. P., & Vallier, L. (2017). Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro. *Basic Science Methods for Clinical Researchers*, 151–172. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803077-6.00009-6>

سپس سلول‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۴ ساعت محیط با ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) و ۲۵ میکرولیتر از بافر سورنسون (گلیسین ۰/۱ مولار، NaCl ۰/۱ مولار، pH: 10.5 با ۰/۱ NaOH (pH 10.5) جایگزین شد. پس از تکان دادن ملایم، سلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری جذب در ۵۷۰ نانومتر از دستگاه میکروپلیت‌ریدر (سوئیس، Tecan, Sunrise) استفاده شد.

۴.۳ تست MTT

آزمون MTT برای ارزیابی سمیت سلولی و زنده ماندن سلولی پس از تیمار میدان‌های شعوری(ط) در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش MTT، تعدادی سلول 3×10^2 در یک صفحه کشت ۹۶ چاهکی کشت شد. اثرات میدان‌های شعوری(ط) بر زنده ماندن سلول‌های نمونه با استفاده از روش MTT (دی‌متیل تیترازول - دی‌فنیل تترازولیوم بروماید)^۲ ارزیابی شد. برای این منظور از MTT (Sigma, Taufkirchen, Germany) در غلظت ۰,۲ میلی گرم در میلی لیتر در محیط RPMI-1640 استفاده شد.



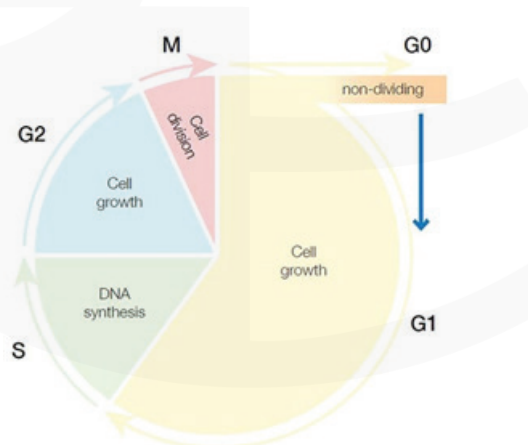
سنجش MTT یک سنجش رنگ سنجی برای اندازه گیری فعالیت متابولیک سلولی است. این بر اساس توانایی آنزیم های اکسیدوردوکتاز سلولی وابسته به نیکوتین آمید آدینین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH) برای کاهش رنگ تترازولیوم MTT به فرمازان نامحلول آن است که رنگ بنفش دارد. بنابراین، این روش بقای سلول را از نظر فعالیت کاهشی به عنوان تبدیل آنزیمی ترکیب تترازولیوم به کریستال های فرمازان نامحلول در آب توسط دهیدروژنازهای موجود در میتوکندری سلول های زنده اندازه گیری می کند، اگرچه عوامل کاهنده و آنزیم های واقع در سایر اندامک ها، مانند شبکه آندوپلاسمی نیز دخیل هستند. در آزمون MTT یک محلول انحلال (دی متیل سولفوکسید یا محلول اتانول اسیدی شده، یا محلولی از ماده شوینده سدیم دودسیل سولفات در اسید هیدروکلریک رقیق) اضافه می شود تا محصول نامحلول فرمازان بنفش را در یک محلول رنگی حل کند. میزان جذب این محلول رنگی را می توان با اندازه گیری در طول موج معین (معمولاً بین ۵۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر) توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری کرد. روش MTT یکی از پرکاربردترین روش ها برای تجزیه و تحلیل تکثیر و زنده ماندن سلول است.

Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>

۴.۴ آنالیز چرخه سلولی

مدت ۷۲ ساعت دیگر در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سلول ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت با استفاده از ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر PI رنگ آمیزی شدند. نسبت سلول ها در مراحل مختلف چرخه سلولی با استفاده از یک فلوسیتومتر در سیستم FACSCalibur (Milteny Biotec FACS Quant 10) ارزیابی شد.

تجزیه و تحلیل پیشرفت چرخه سلولی از طریق رنگ آمیزی با یدید پروپیدیوم انجام شد. سلول ها در صفحات ۶ چاهکی (1×10^4 سلول در هر چاهک) کشت داده شدند و یک شب در انکوباتور استاندارد نگهداری شدند. سلول های گروه آزمایش شسته، جدا و برداشت شدند، مجدداً معلق شدند، در اتانول ۷۰ درصد تثبیت شدند و به

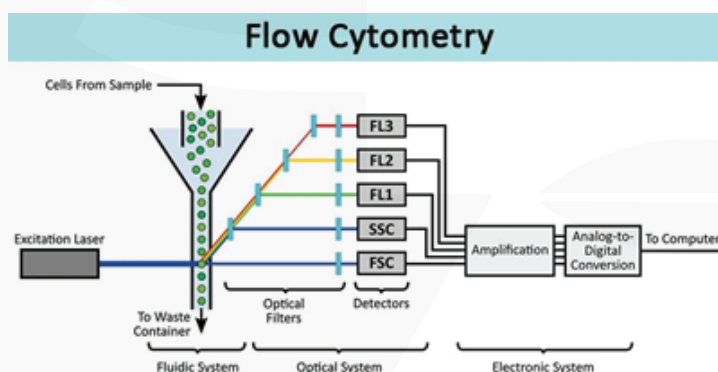


چرخه سلولی مجموعه ای از رویدادهایی است که در یک سلول در حین رشد و تقسیم اتفاق می افتد. یک سلول بیشتر زمان خود را در مرحله ای به نام اینترفاز می گذراند و در این مدت رشد می کند (بخش نازنجی)، کروموزوم های خود را تکثیر می کند (مرحله S) و برای تقسیم سلولی آماده می شود (G2). سپس سلول اینترفاز را ترک می کند، تحت میوز قرار می گیرد و تقسیم خود را کامل می کند. سلول های حاصل که به سلول های دختر معروف هستند، هر کدام وارد اینترفاز خود می شوند و دور جدیدی از چرخه سلولی را آغاز می کنند.

۴.۵ ارزیابی آپتوز با روش فلوسایتومتری

با حرکت دست و تکان دادن میکروتیوب با یکدیگر مخلوط و یک دست نموده به طوری که رسوب سلول‌ها با مواد موجود به راحتی حل شود. در مرحله بعد، نمونه‌ها در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) به مدت زمان ۱۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. در نهایت آنالیز سلولی توسط دستگاه فلوسایتومتری (BD Biosciences, San Diego, CA, USA) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار دستگاه و تقسیم نقاط ثبت شده در منحنی دوبعدی به چهار ناحیه Q1 تا Q4 صورت گرفت. به منظور تعیین اثرات فرادرمانی در جهت القاء آپتوز و یا نکروز، درصد سلول‌های مستقر در هر ناحیه توسط نرم‌افزار دستگاه فلوسایتومتری (FCS Express) محاسبه و گزارش گردید.

به منظور تعیین درصد سلول‌های آپتوز شده در یک جمعیت سلولی تیمار شده با میدان شعوری فرادرمانی و قیاس آن با جمعیت سلولی در کنترل، رنگ آمیزی سلول‌ها با دو رنگ Annexin-V و پروپیدیوم یدید (PI) (Sigma-Aldrich, Germany) انجام گرفت. به این صورت که، بعد از تیمار کردن سلول‌ها با میدان، در زمان ۲۴ ساعت، سلول‌ها را ترپسینه کرده و با بافر فسفات سالین (PBS) استریل شستشوی سلول‌ها انجام گرفت. به رسوب حاصل از سانتریفوژ سلول‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر بافر باندینگ به میکروتیوپ ۱/۵ میلی لیتر اضافه شد. در ادامه ۱۰ میکرو لیتر از رنگ پروپیدیوم یدید (PI) و ۵ میکرولیتر از رنگ آنکسین (Annexin-V) نیز به محتویات موجود در میکروتیوب اضافه شد. سپس، تمامی محتویات را به آرامی



شکل شماتیک یک فلوسیتومتر که سیستم‌های سیال، نوری و الکترونیکی آن را نشان می‌دهد.

فلوسیتومتری فناوری است که تجزیه و تحلیل چند پارامتری سریع سلول‌های منفرد در محلول را ارائه می‌دهد. فلوسیتومترها از لیزرها به عنوان منابع نوری برای تولید سیگنال‌های نور پراکنده و فلورسنت استفاده می‌کنند که توسط آشکارسازهایی مانند دیودهای نوری یا لوله‌های فتومضریب خوانده می‌شوند. این سیگنال‌ها به سیگنال‌های الکترونیکی تبدیل می‌شوند که توسط کامپیوتر آنالیز می‌شوند و در یک فایل داده با فرمت استاندارد (FCS) ذخیره می‌شوند. جمعیت سلولی را می‌توان بر اساس ویژگی‌های فلورسنت یا پراکندگی نور آنها تجزیه و تحلیل و یا خالص کرد. انواع معرف‌های فلورسنت در فلوسیتومتری استفاده می‌شود. شامل آنتی بادی‌های کونژوگه فلورسنت، رنگ‌های اتصال به DNA، رنگ‌های بررسی زنده‌مانی، رنگ‌های شاخص یونی و پروتئین‌های بیان فلورسنت هستند. فلوسیتومتری ابزار قدرتمندی است که در ایمونولوژی، زیست‌شناسی مولکولی، باکتری‌شناسی، ویروس‌شناسی، بیولوژی سرطان و پایش بیماری‌های عفونی کاربرد دارد. طی ۳۰ سال گذشته شاهد پیشرفت‌های چشمگیری بوده است که کشف جزئیات بی‌سابقه‌ای را در مطالعات سیستم ایمنی و سایر حوزه‌های زیست‌شناسی سلولی امکان‌پذیر کرده است.

<https://microbenotes.com/flow-cytometry/>

۴.۶ آنالیز آماری

داده‌ها با نرم‌افزار آماری GraphPad Prism نسخه ۹، San Diego, (CA) تجزیه و تحلیل شد. تمام مقادیر به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شد. تمام آنالیزها حداقل سه بار تکرار شدند. برای تعیین معنی‌داری تفاوت‌ها از آزمون‌های t و آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد و مقادیر $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

در تحلیل آماری، هنگامی که آزمون فرضیه را انجام می‌دهید، p-value به شما کمک می‌کند تا معناداری نتایج خود را تعیین کنید.

آزمون فرضیه: یکی از اجزای اصلی مطالعات پژوهشی، آزمون فرضیه نامیده می‌شود. آزمون فرضیه تکنیکی است که با استفاده از داده‌ها، ادعایی در مورد یک جمعیت، تایید یا رد می‌شود. به عنوان مثال، یک سیاستمدار ممکن است ادعا کند که ۸۰٪ از مردم با او موافق هستند - آیا این واقعاً درست است؟ یا ممکن است یک شرکت تحویل بار ادعا کند که محصول را در ۳۰ دقیقه یا کمتر تحویل می‌دهد. آیا این واقعاً درست است؟! همینطور محققان علوم بالینی همواره از آزمون‌های فرضیه استفاده می‌کنند؛ بر تعیین اینکه آیا یک داروی خاص مؤثر است یا نه، یا اینکه داروی جدید در مقایسه با داروی موجود از نظر عوارض جانبی موفق‌تر است یا نه و ... پارامترهایی مربوط به یک جمعیت که اغلب مورد آزمون فرضیه قرار می‌گیرند، این موارد هستند:

- میانگین جمعیت (آیا ۲ ساعت به عنوان میانگین زمان اثربخشی دارو واقعاً درست است؟)

- نسبت جمعیت (آیا درست است که ۸۰ درصد افراد با مصرف دارو، تجربه درمان موفق را خواهند داشت؟)

- تفاوت در دو میانگین یا دو نسبت جمعیت (آیا این درست است که میانگین زمان اثربخشی بهتر از داروی مشابه است؟ یا اینکه درصد درمان موفق در مردان از زنان بیشتر است؟)

پس آزمون‌های فرضیه برای آزمودن اعتبار ادعایی که در مورد یک جمعیت مطرح است، استفاده می‌شود. هر ادعایی که در حال آزمایش است، فرضیه صفر (Null hypothesis) نامیده می‌شود. فرضیه جایگزین فرضیه‌ای است که اگر نتیجه‌گیری شود که فرضیه صفر نادرست است، آن را باور خواهید کرد. تمام شواهد موجود در ارزیابی در تست، داده‌های ما و آماری است که همراه با آن است. همه‌ی آزمون‌های فرضیه، در نهایت از یک مقدار p برای سنجش قدرت شواهد (آنچه داده‌ها در مورد جامعه به شما می‌گویند) استفاده می‌کنند. مقدار p عددی بین ۰ و ۱ است و به صورت زیر تفسیر می‌شود:

- یک مقدار p کوچک (معمولاً ≤ 0.05) نشان‌دهنده شواهد قوی علیه فرضیه صفر است، بنابراین شما فرضیه صفر را رد می‌کنید.

- مقدار p بزرگ (> 0.05) نشان‌دهنده شواهد ضعیف در برابر فرضیه صفر است، بنابراین شما نمی‌توانید فرضیه صفر را رد کنید.

- مقادیر p بسیار نزدیک به آستانه (۰.۰۵)، نتیجه‌ی مرزی (ادعا ممکن است به هر دو طرف رد و قبول برود) در نظر گرفته می‌شوند.

Deborah J. Rumsey (2016). Statistics For Dummies, 2nd Edition ISBN: 978-1-119-29352-1