

Dr. Öğr. Üyesi. Melis KARTAL YANDIM¹

GİRİŞ

Primer kültür
Hücre hattı
Hücre suşu
Sınırlı ve Devamlı Hücreler
Kültür Koşulları
Besiyeri
pH
CO₂
Sıcaklık
Hücre Kültürünün Uygulama Alanları
Hücre Kültürünün Avantaj ve Dezavantajları
Hücre Kültürü Laboratuvarında Bulunması Gereken Özellikler
Güvenlik
Biyogüvenlik Seviyeleri
Güvenlik Bilgi Dökümanı
Güvenlik Ekipmanları
Kişisel Koruyucu Ekipmanlar
Güvenli Laboratuvar Uygulamaları

Hücre Kültürü Ekipmanları
Temel Ekipmanlar
Opsiyonel Ekipmanlar
Sarf Malzemeler
Aseptik Çalışma Alanı
Hücre Kültürü Kabini
Hücre Kültürü Kabinlerinin Hava Akım Özellikleri
İnkübatör
Depolama
Buzdolapları
Dondurucular
Aseptik Teknik
Steril Çalışma Alanı
İyi Kişisel Hijyen
Steril Reaktifler ve Besiyerleri
Steril Uygulamalar
Yeni Nesil Hücre Kültürü: Üç Boyutlu (3D) Hücre Kültürüne Genel Bakış
KAYNAKLAR

1. GİRİŞ

Hücre kültürü, hayvan veya bitki hücrelerinin uygun yapay ortamlarda büyütülmesidir. Bu hücreler direkt olarak hayvan veya bitki dokusundan alınarak kültür öncesinde enzimatik veya mekanik etkilerle ayrıştırılabildiği gibi, önceden ayrıştırılmış ve oluşturulmuş hücre hatlarından da çoğaltılarak büyütülebilir.

Primer kültür, bir dokudan izole edilen hücrelerin uygun koşullar altında ortamdaki mevcut tüm substratı tüketene kadar çoğaltıldığı evredir. Hücrelerin ortamdaki mevcut substratı tüketmesi ve belli bir hücre yoğunluğuna ulaşması, **konfluensiye ulaşmak** olarak adlandırılır. Primer

kültürdeki hücreler konfluensiye ulaştığında hücrelerin alt kültürleri alınmalıdır. Alt kültürleme işlemi, **pasajlama** olarak adlandırılır ve konfluensiye ulaşan hücrelerin devamlı büyümesini sağlamak amacıyla bir kısmının alınarak taze büyüme ortamı içeren yeni kültür kaplarına aktarılması ile gerçekleştirilir.

Hücre hattı, primer kültürün ilk pasajı sonrası oluşan altklon bir kültürdür. Primer kültürlerin pasajlanması ile oluşan hücre hatları, sınırlı yaşam süresine sahiptir. Bu hücreler pasajlandıkça yüksek büyüme kapasitesine sahip hücreler ortamda daha baskın olacağından zamanla belli bir düzeyde genotipik ve fenotipik olarak birbirinin aynı hücre popülasyonu oluşur.

¹ İzmir Ekonomi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.,

arttırmaktadır. Bununla birlikte, ortamda üretilen hücre agregatları (küreler veya sferoidler), hücre adhezyonuna bağlı olarak, 500 µm'den büyük çaplı geniş kümeler oluşturarak yavaş bir hücre proliferasyon hızına ve besinlerin yetersiz difüzyonuna neden olmaktadır. Bu şekilde oluşturulan büyük boyutlu sferoidler, anti-kanser ilaçlara karşı sözde direnç geliştirebilmektedirler (Gong ve ark). Asılı damla yöntemi, homojen bir boyutta sferoid üretimine olanak vermekte; ancak büyük çaba ve özel aparat gerektirmektedir (Abe-Fukasawa ve ark, Katt ve ark). Mikroakışkan teknolojiler, üç boyutlu hücre kültürleri ve hücre tabanlı analizler için çeşitli pratik platformlar sağlamaktadır. Bununla birlikte, bu teknolojiler mikrofabrike enstrümanlar gerektirmesi ve işlemin karmaşık olması nedeniyle nispeten pahalı olabilmektedir (Li ve ark, Zhang ve ark).

İki boyutlu hücre kültürü alanındaki bilgi birikimi ile karşılaştırıldığında, üç boyutlu hücre kültürü araştırmaları, halen emekleme döneminindedir. Bu nedenle, bu alanda daha fazla bilgiye sahip olabilmek ve dezavantajlı durumların üstesinden gelerek *in vivo* koşulları en iyi şekilde taklit edebilmek amacıyla ileri araştırmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Breslin ve O'Driscoll).

KAYNAKLAR

- Abe-Fukasawa N, Otsuka K, Aihara A, Itasaki N, Nishino T. Novel 3D liquid cell culture method for anchorage-independent cell growth, cell imaging and automated drug screening. *Scientific Reports* 2018; 8(1).
- Alberts B. *Molecular biology of the cell*. New York: Garland Science Taylor & Francis; 2008.
- Ambrose CT. An amended history of tissue culture: Concerning Harrison, Burrows, Mall, and Carrel. *Journal of Medical Biography* 2019; 27(2):95-102.
- Breslin S, O'Driscoll L. The relevance of using 3D cell cultures, in addition to 2D monolayer cultures, when evaluating breast cancer drug sensitivity and resistance. *Oncotarget* 2016; 7(29):45745-45756.
- Donaldson CD, Bishop KN. Cell culture. *British Journal of Hospital Medicine* 2015; 76(1).
- Fang Y, Eglén RM. Three-dimensional cell cultures in drug discovery and development. *SLAS Discovery*, 2017; 22(5):456-472.
- Freshney RI. *Culture of animal cells: A manual of basic techniques*. Wiley-Liss; 2005.
- Gey GO, Coffman WD, Kubicek MT. Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Research* 1952; 12:264-265.
- Gibco Education. *Cell Culture Basics Handbook*. Thermo Fisher Scientific Inc; 2016.
- Gong X, Lin C, Cheng J, Su J, Zhao H, Liu T ve ark. Generation of multicellular tumor spheroids with microwell-based agarose scaffolds for drug testing. *Plos One* 2015; 10(6).
- Hait WN. Anticancer drug development: The grand challenges. *Nature Reviews Drug Discovery* 2010; 9(4), 253-254.
- Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research*, 1961; 25(3), 585-621.
- Katt ME, Placone AL, Wong AD, Xu ZS, Searson PC. In vitro tumor models: advantages, disadvantages, variables, and selecting the right platform. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 2016; 4:12.
- Li XJ, Valade AV, Zuo P, Nie Z. Microfluidic 3D cell culture: potential application for tissue-based bioassays. *Bioanalysis* 2012; 4(12):1509-1525.
- Lucey BP, Nelson-Rees WA, Hutchins GM. Henrietta Lacks, HeLa cells, and cell culture contamination. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 2009; 133(9):1463-1467.
- Paul SM, Mytelka DS, Dunwiddie CT, Persinger CC, Munos BH, Lindborg SR ve ark. How to improve R&D productivity: The pharmaceutical industry's grand challenge. *Nature Reviews Drug Discovery* 2010; 9(3), 203-214.
- Ramaiahgari SC, Braver MW, Herpers B, Terpstra V, Commandeur JN, Water BV ve ark. A 3D in vitro model of differentiated HepG2 cell spheroids with improved liver-like properties for repeated dose high-throughput toxicity studies. *Archives of Toxicology* 2014; 88(5):1083-95.
- Rous P. A method for obtaining suspensions of living cells from the fixed tissues, and for the plating out of individual cells. *Journal of Experimental Medicine* 1916; 23(4), 549-555.
- Scherer WF, Syverton JT, Gey GO. Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses: IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix. *Journal of Experimental Medicine* 1953; 97(5), 695-710.
- Wilkening S, Stahl F, Bader A. Comparison of primary human hepatocytes and hepatoma cell line HepG2 with regard to their biotransformation properties. *Drug Metabolism and Disposition* 2003; 31(8), 1035-1042.
- Zhang J, Wei X, Zeng R, Xu F, Li X. Stem cell culture and differentiation in microfluidic devices toward organ-on-a-chip. *Future Science OA* 2017; 3(2):FSO187.