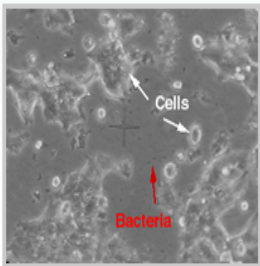
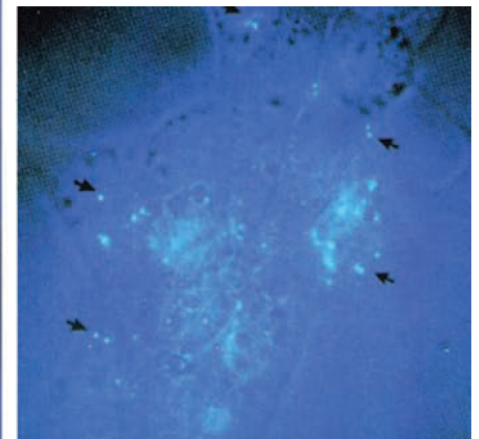
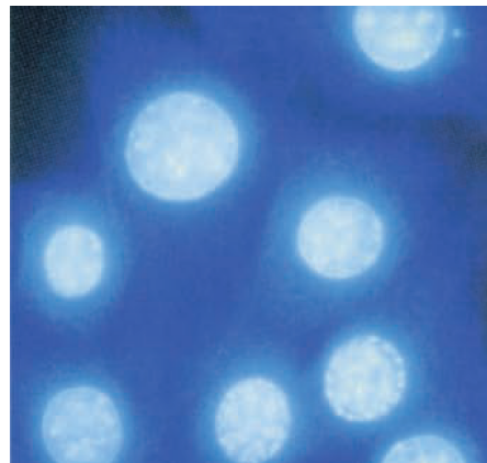
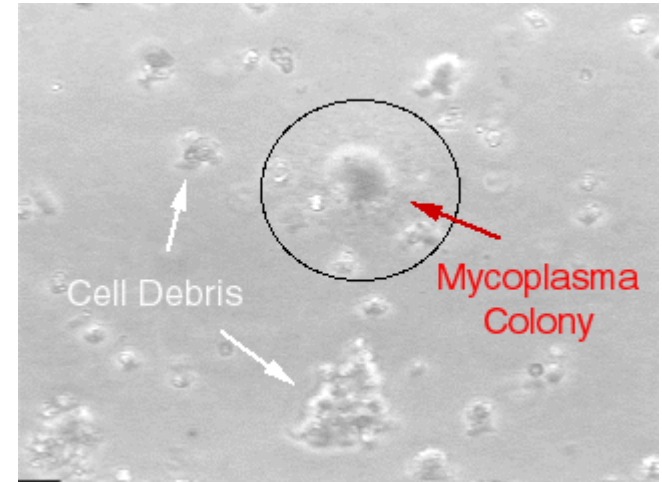
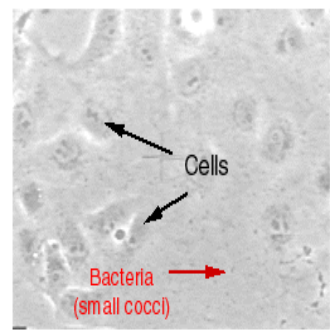
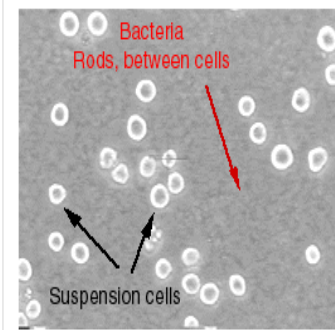


KONTAMINASYON

Bacteria (cocci) @ 320x magnification. In this example, the cells are the larger refractile bodies, while the bacteria appear as very small dark "dots" in the spaces between the cells.

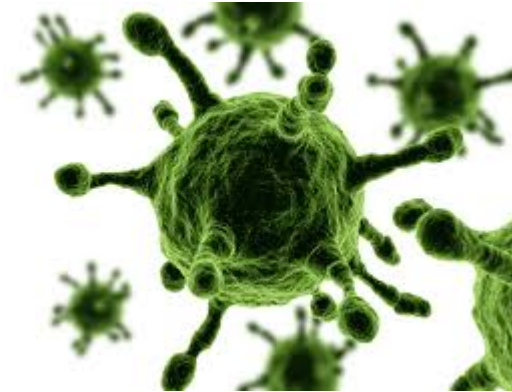


(left) Bacteria (rods) @ high conc. between cells (right) Bacteria (cocci) between cells



KONTAMİNASYON

- ✓ Kontaminasyon hücre kültürü laboratuvarlarında en çok karşılaşılan problemlerden birisidir.
- ✓ Hücrelerin kültür edildiği besi yeri ortamının **istenmeyen canlı ya da cansız** bir kısım faktörler tarafından işgal edilmesi durumudur.
- ✓ Kontaminasyon hücrelere zarar verdiği gibi yapılan çalışmanın sonuçlarını da etkiler.



KONTAMİNASYON

Kontaminasyon problemleri 3 sınıfa ayrılabilir;

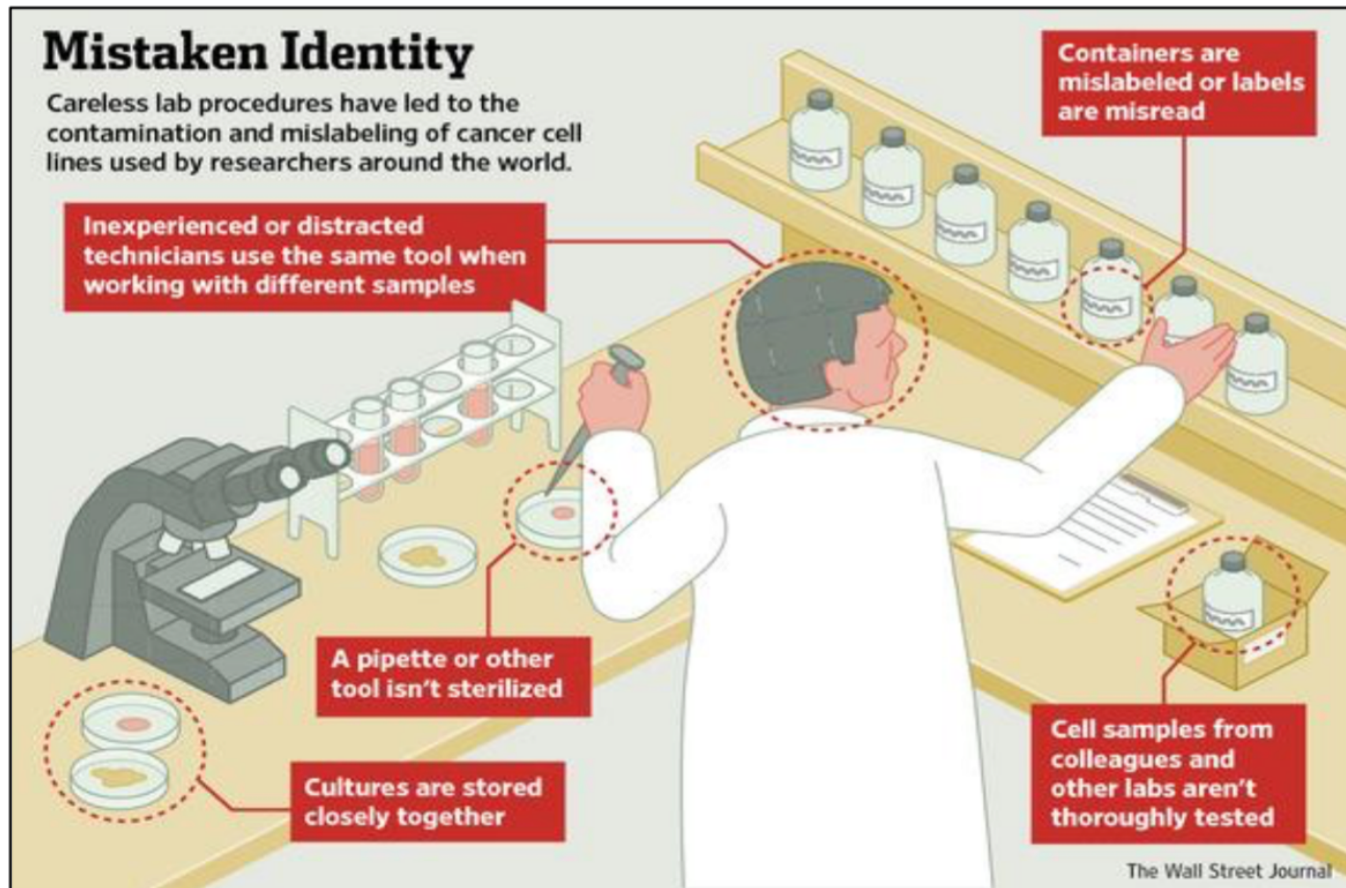
- **Küçük çaplı problemler:** İnkubatorde birkaç plate'de kontaminasyon görülür.
- **Ciddi problemler:** Kontaminasyon sıklığı artar, bütün bir deney ya da bütün plate'lerin kontamine olduğu durumlardır.
- **Büyük çaplı problemler:** Tespit edilen kontaminasyon kaynağının geçmişte yapılan ve yapılması planlanan deneylerin hepsini riske attığı durumlardır.

KONTAMİNASYON

- ✓ Zaman, para ve emek kaybı,
- ✓ Hücreler üzerinde telafisi olmayan zararlar,
- ✓ Deney sonuçlarının etkilenmesi,
- ✓ Araştırmacı üzerinde oluşan stres,
- ✓ Değerli ürünlerin kaybolması (özel hücre hatları gibi...)



KONTAMİNASYON KAYNAKLARI



An example scenario of potential cell contamination.

KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

Laboratuvardaki İşlemler Kaynaklı;

- Partikullerin hareketi
 - Hapşıрма, öksürme, ya da laboratuvar içerisinde hızlı hareket neticesinde hava hareketi
 - Dikkatsiz pipetleme, vorteksleme ve santrifujleme
- Solusyon ya da kullanılan malzemelerin karıştırılması
- Özensiz otoklavlama
- Aynı anda birden fazla hücre ile çalışma

KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

Laboratuvardaki Ekipmanları Kaynaklı;

- ✓ Düzenli temizlik ve bakımı yapılmayan inkubator, buzdolabı, su banyosu, vs.
- ✓ Besi yeri ve kullanılan plastik malzemelerin steril olmaması
- ✓ Kirli kıyafet ya da lab onluğu
- ✓ Besleyici hücrelerin kullanımı

KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

Kontaminasyon kaynakları 2 başlık altında incelenebilir.

✓ **Kimyasal Kontaminantlar**

- Hücre kültürü ortamında hücrelerin yaşamını ve deneylerin sonucunu olumsuz etkileyecek **kimyasal ajanlar**

✓ **Biyolojik Kontaminantlar**

- Hücre kültürü ortamında hücrelerin yaşamını ve deneylerin sonucunu olumsuz etkileyecek **biyolojik ajanlar**

KİMYASAL KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

- **Besi yeri**; ıkerik ya da su kaynaklı
- **Serum**; canlı organizmalardan temin edildikleri için serum ıceriğinde dolayısıyla büyüme faktörleri ve hormon ıceriğinde farklılıklar olması
- **Su**
- **Endotoksinler**
- **Saklama kapları**
- **Florasan Işıklar**, besi yerinde bulunan tryptophan, riboflavin veya HEPES'in fotoaktivasyonu ile serbest radikal moleküllerinin oluşması
- **İnkübatörler**, saf olmayan CO₂ kaynağı, dezenfeksiyonda kullanılan kimyasallar

BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

➤ **Bakteri**

➤ **Mantar ve maya**

- Bakteri, mantar ve maya kontaminasyonu en sık görülen kontaminantlardır, havada çok miktarda bulunmaları ve uygun ortamda kolayca çoğalabilmeleri bunun başlıca nedenleri arasındadır.

➤ **Mikoplazma**

➤ **Virus**

➤ **Hucreler arası capraz kontaminasyon**

BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

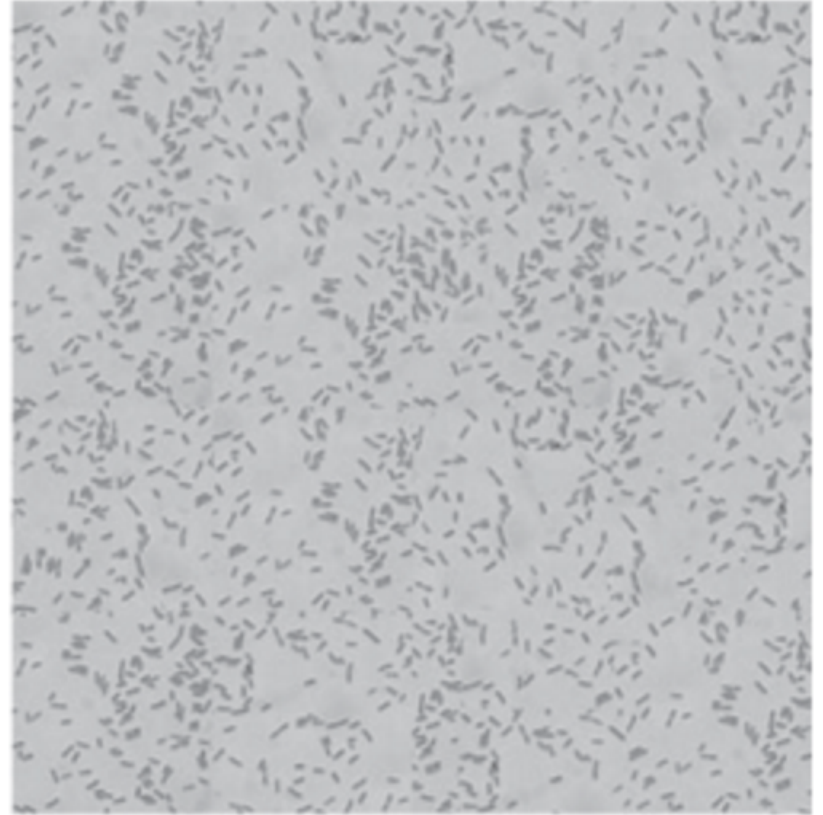
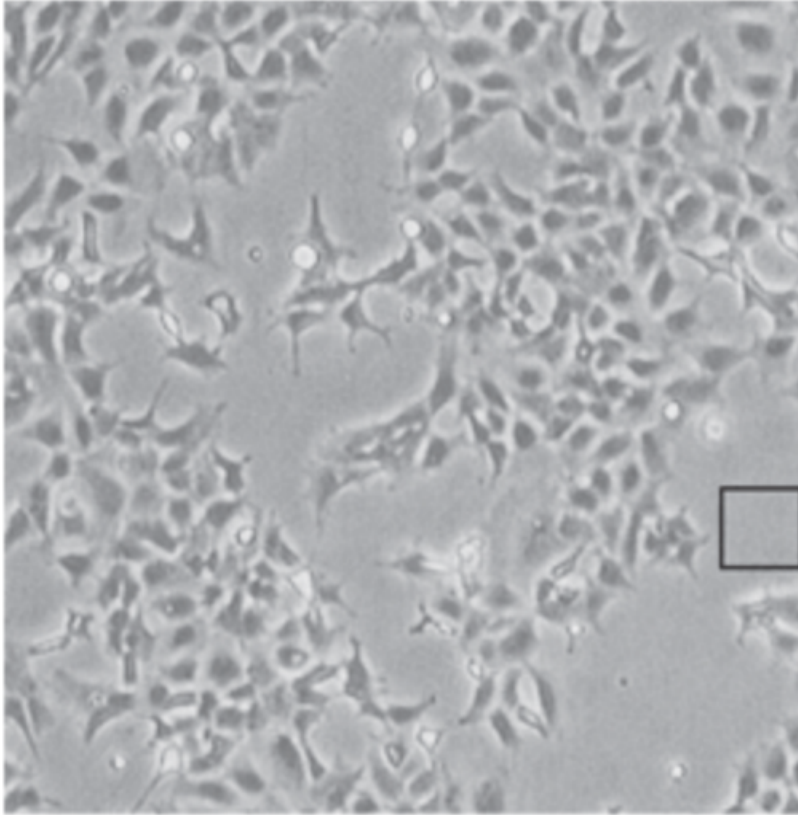
- ✓ Kullanılan malzemelerin steril olmayan yüzeylerle teması
- ✓ Hücrelerin kültürleri, taşınması ve inkübasyonları esnasında hava zerreciklerinin besi ortamına düşmesi
- ✓ Sıvı ortamlar aracılığıyla canlı organizmaların besi yeri ortamına taşınması (özellikle ıslak kalmış kapaklar aracılığıyla)
- ✓ Araştırmacının hata ve yanlışları

BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

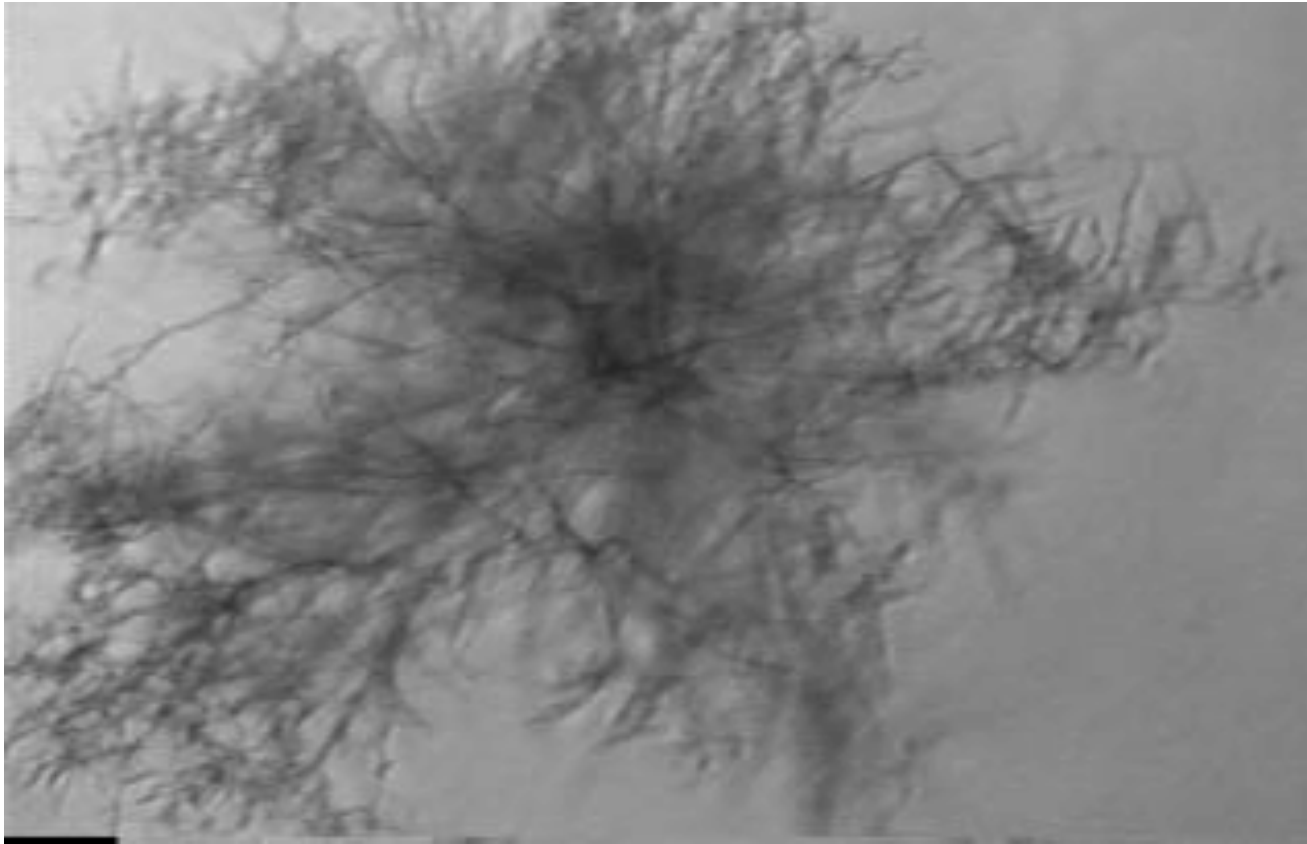
Bakteri, Mantar ve Mayalar

- ✓ Hemen hemen her yerde bulunurlar ve besi yeri ortamı büyüyüp çoğalmaları için çok uygundur.
- ✓ Özellikle antibiyotiklerin yokluğunda 2-3 günlük bir süre içerisinde ortaya çıkabilirler (Mikroskop altında görülebildikleri gibi, besi ortamının rengi, pH'sı ve berraklığındaki değişimlerden de fark edilebilirler).
- ✓ Çok yüksek miktarlarda kullanılan antibiyotikler antibiyotiğe dirençli organizmaların oluşumuna neden olabilir.

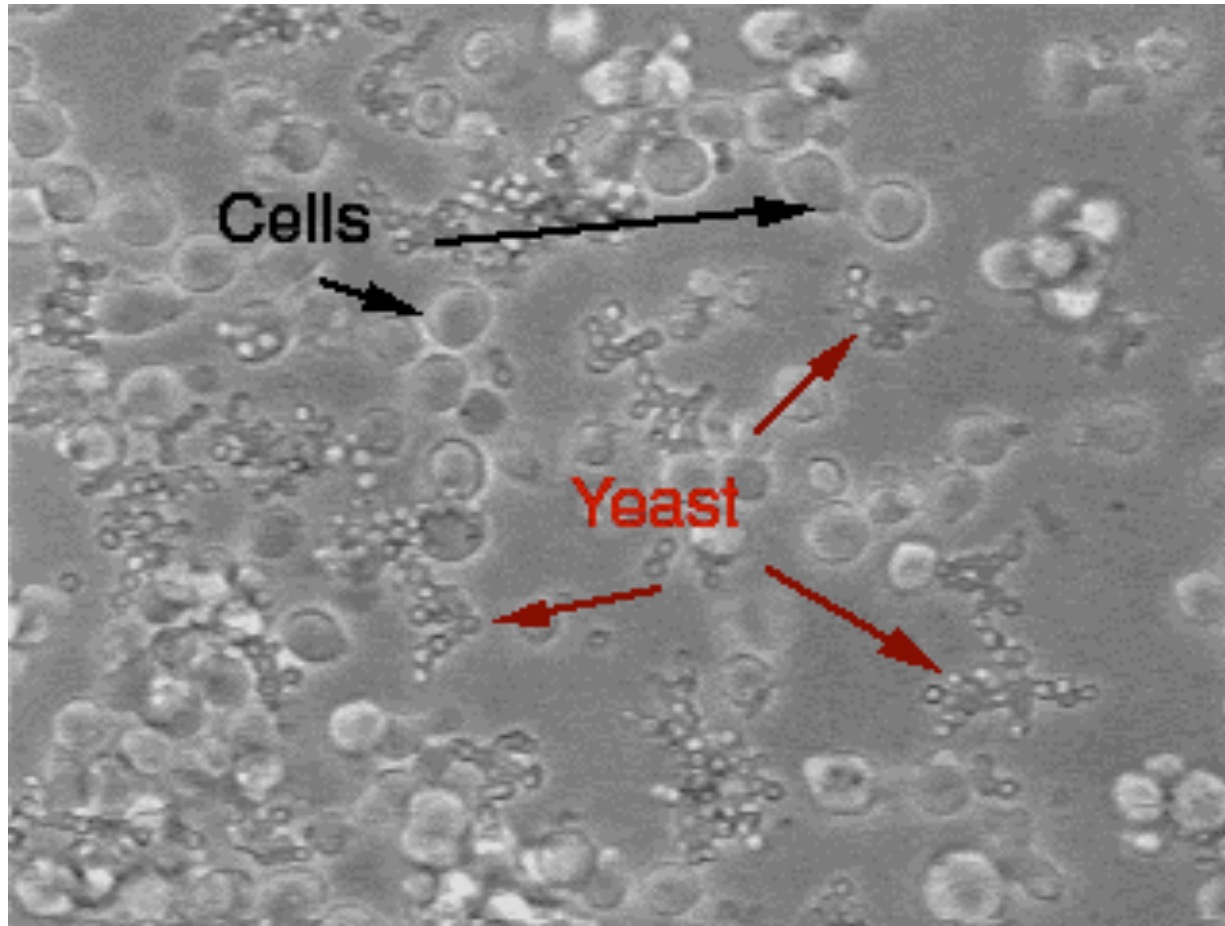
BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI



BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI



BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI



BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

Virüs

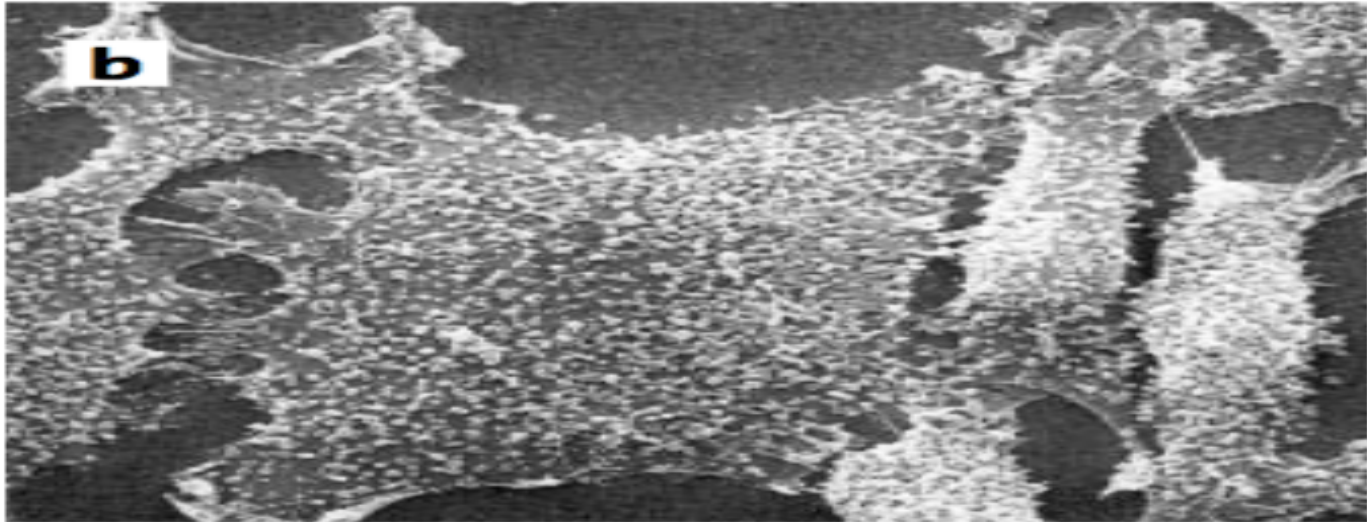
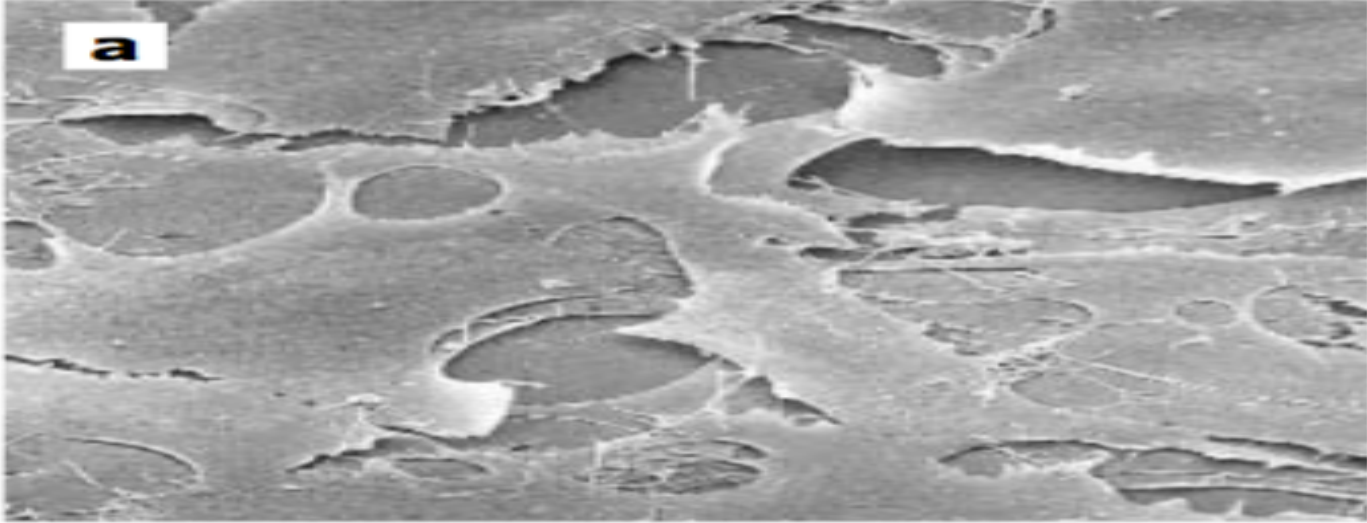
- ✓ Çok küçük olmalarında dolayı hücre kültürü ortamında en zor tespit edilebilen kontaminantır.
- ✓ Küçük olmaları içerisinde bulundukları ortamdan uzaklaştırılabilmelerini de zorlaştırır.
- ✓ Virüs kontaminasyonu birincil olarak araştırmacı için tehdittir.
- ✓ Virus kontaminasyonu riski olan (primer kültür, diğer canlı türlerine ait hücreler) hücrelerle çalışılırken ekstra dikkatli olunmalıdır.

BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

Mikoplazma

- Mikoplazmalar kendiliğinden bölünüp çoğalabilen en küçük organizmalardır.
- Şu anda var olan hücrelerin %10-15'inin mikoplazma ile kontamine olduğu tahmin edilmektedir.
- Mikoplazma varlığı hücrelerin sağlıklı bir şekilde büyümelerine engel olurken, hücrelerde kromozom anomalileri de dahil birçok sorun oluştururlar.
- Genellikle gözle tespit edilemediklerinden ve oldukça yaygın olduklarından hücre kültürü çalışmaları açısından önemli bir tehdittir.

BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

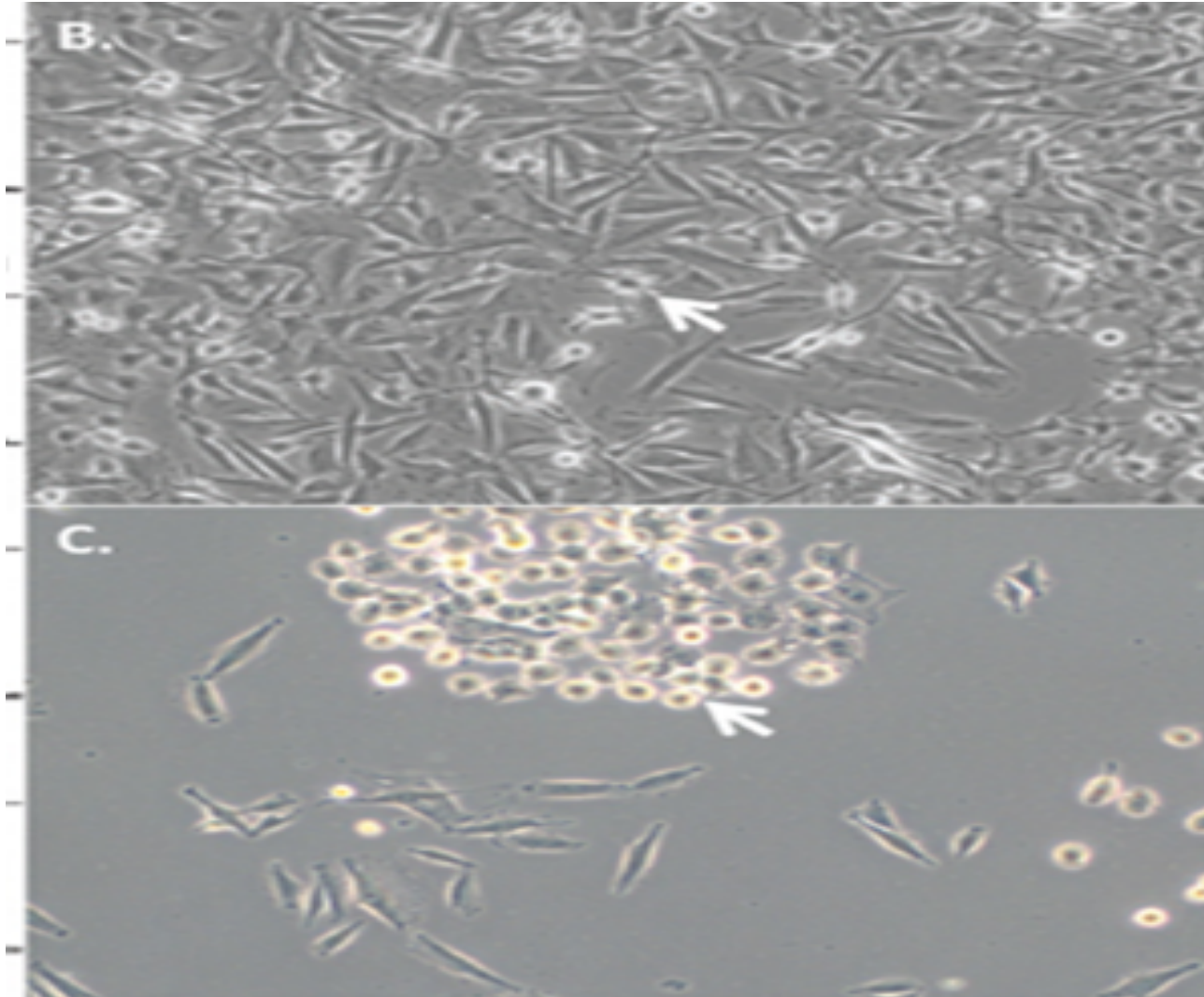


BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI

Çapraz kontaminasyon

- ✓ Agresif olan (ikiye bölünme süreleri kısa olan) hücreler potansiyel çapraz kontaminasyon kaynaklarıdır.
- ✓ Çapraz kontaminasyon özellikle çalışan hatasından kaynaklanır.
- ✓ Deney sonuçlarını doğrudan etkilediğinden düzenle olarak hücreler karakterizasyon işlemine tabi tutularak takip edilmelidirler.

BİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARI



KONTAMİNASYONDAN NASIL KORUNABİLİR?

- Çalışırken aseptik tekniğin kullanılması
- Besi yerlerinde düzenle olarak antibiyotik kullanılması,
- Laboratuvar personelinin iyi eğitilmiş olmaları,
- Kullanılan materyallerin alikotlanarak (küçük miktarlara bölünerek) kullanılması,

KONTAMİNASYONDAN NASIL KORUNABİLİR?

- ✓ Çalışmanın her aşamasında laminar kabinlerde çalışmaya özen gösterme,
- ✓ Laminar kabinin kullanılmadan önce 30 dk UV'ye maruz bırakılması ve laminar kabin açıldıktan sonra en az 5 dk çalıştırılıp sonra kullanılmaya başlanması
- ✓ Laboratuvarın düzenli olarak temizlenmesi

KONTAMİNASYONDAN NASIL KORUNABİLİR?

- Çapraz kontaminasyonu önlemek için hücre morfolojilerinin dikkatle takip edilmesi,
- Aynı anda sadece tek bir hücre hattı ile çalışılması,
- Kullanılan petri ve flaskların özenle işaretlenmesi

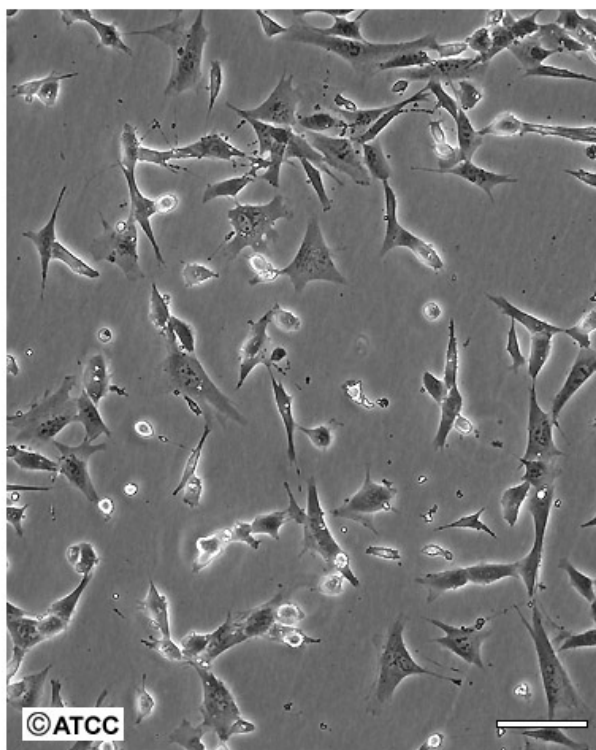
ADHERENT HUCRELER

Genellikle **solid dokulardan** elde edilen hücreler kültür ortam yüzeyine tutunarak gelişir ve çoğalırlar.

Bu şekilde **tutunma (adhezyon) molekülleri** ile bir zemine tutunarak çoğalan hücrelere **adherent hücre** denir.

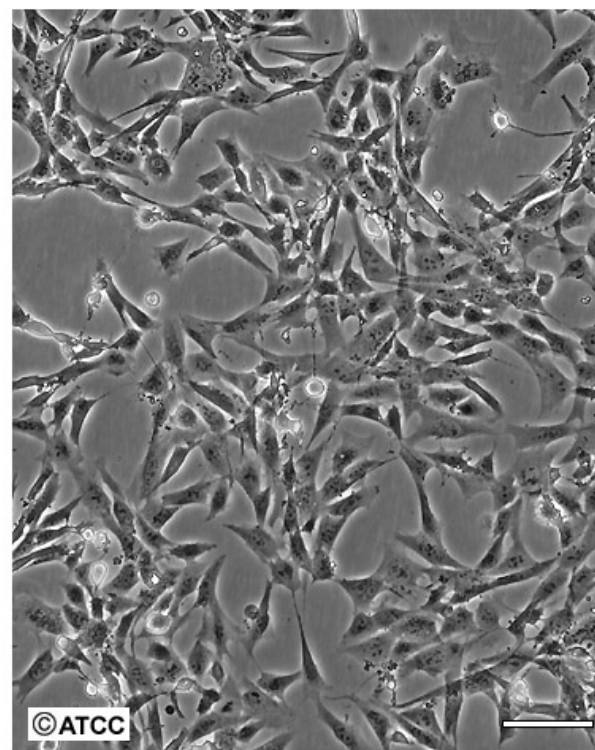


ATCC Number: **CRL-2752**
Designation: **3T3 MEFs WT**



Low Density

Scale Bar = 100µm



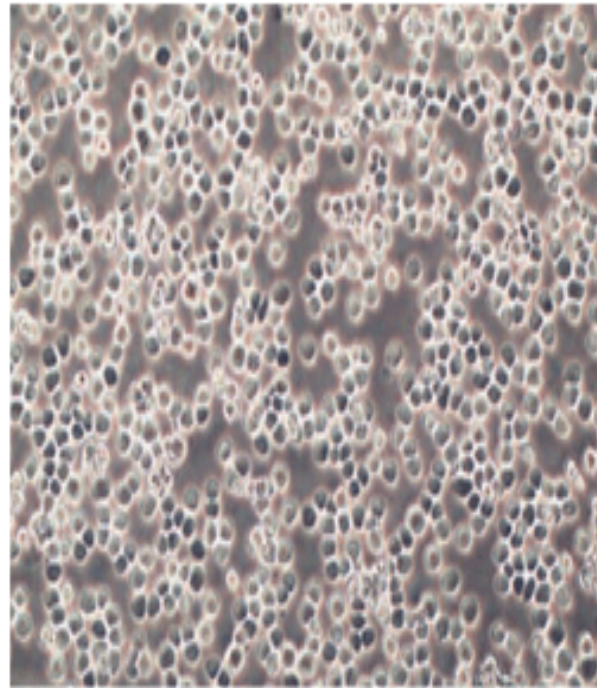
High Density

Scale Bar = 100µm

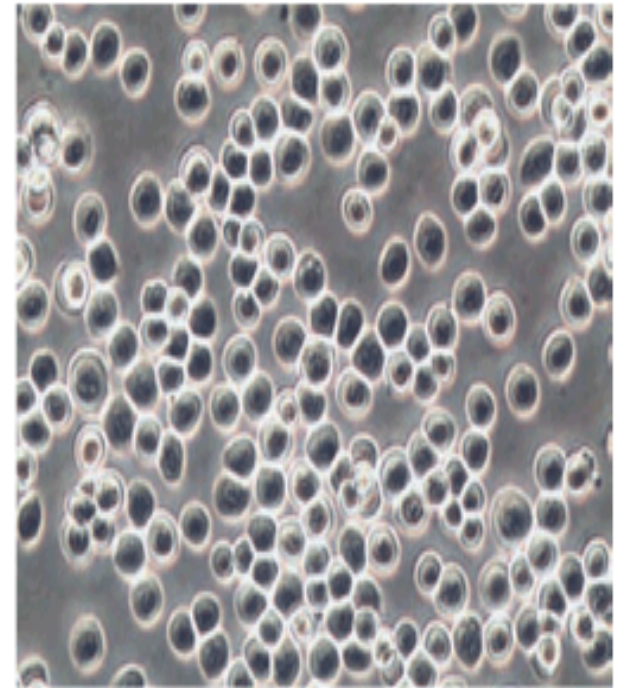
SÜSPANSE HÜCRELER

Kan ve kemik iliği hücreleri üreyip çoğalmaları için genellikle bir yüzeye ihtiyaç duymazlar veya çok az ihtiyaç duyarlar.

Bu tip kültürlere **süspansiyon kültürler** denir.



A

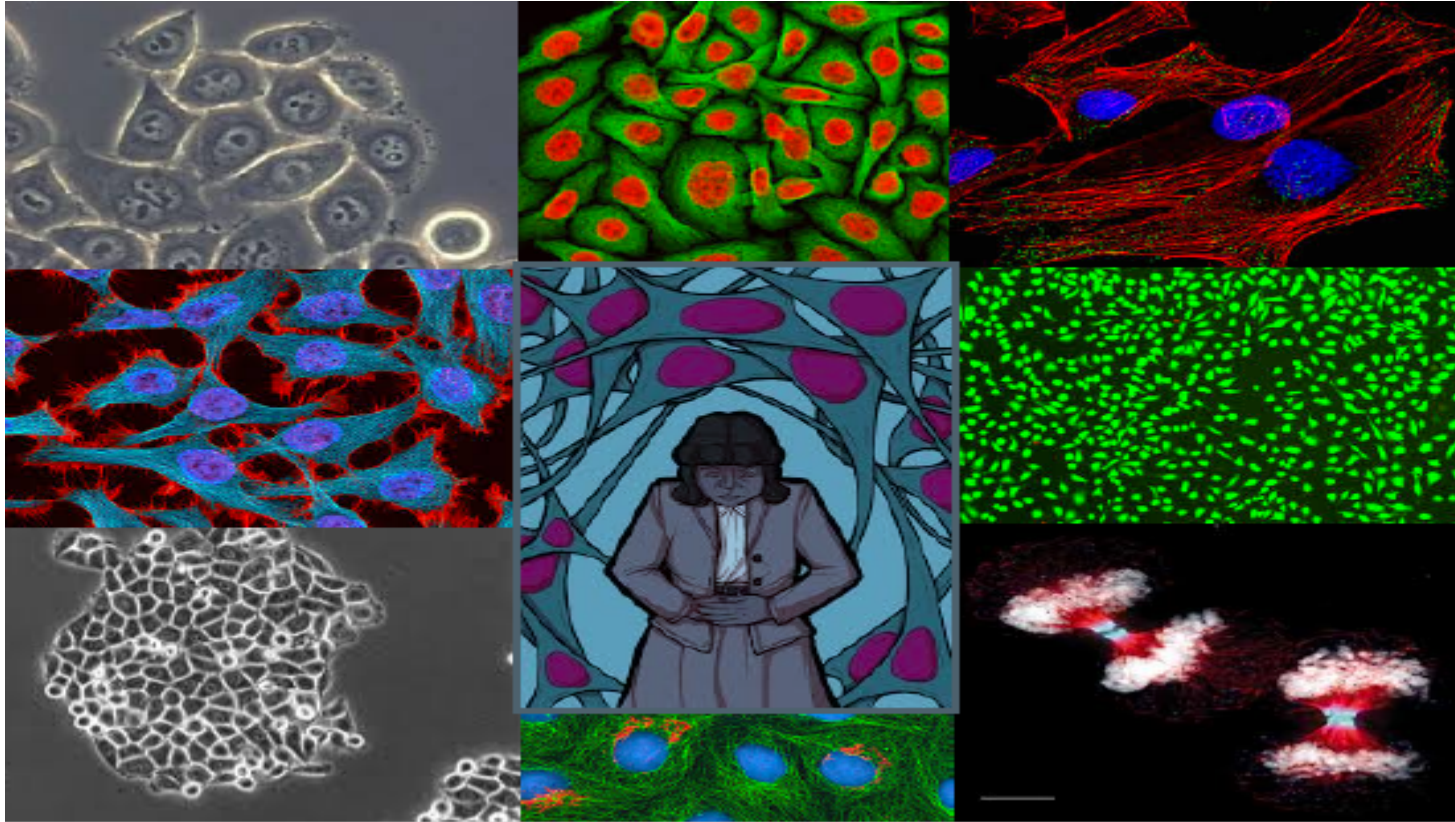


B

HÜCRE MORFOLOJİSİ

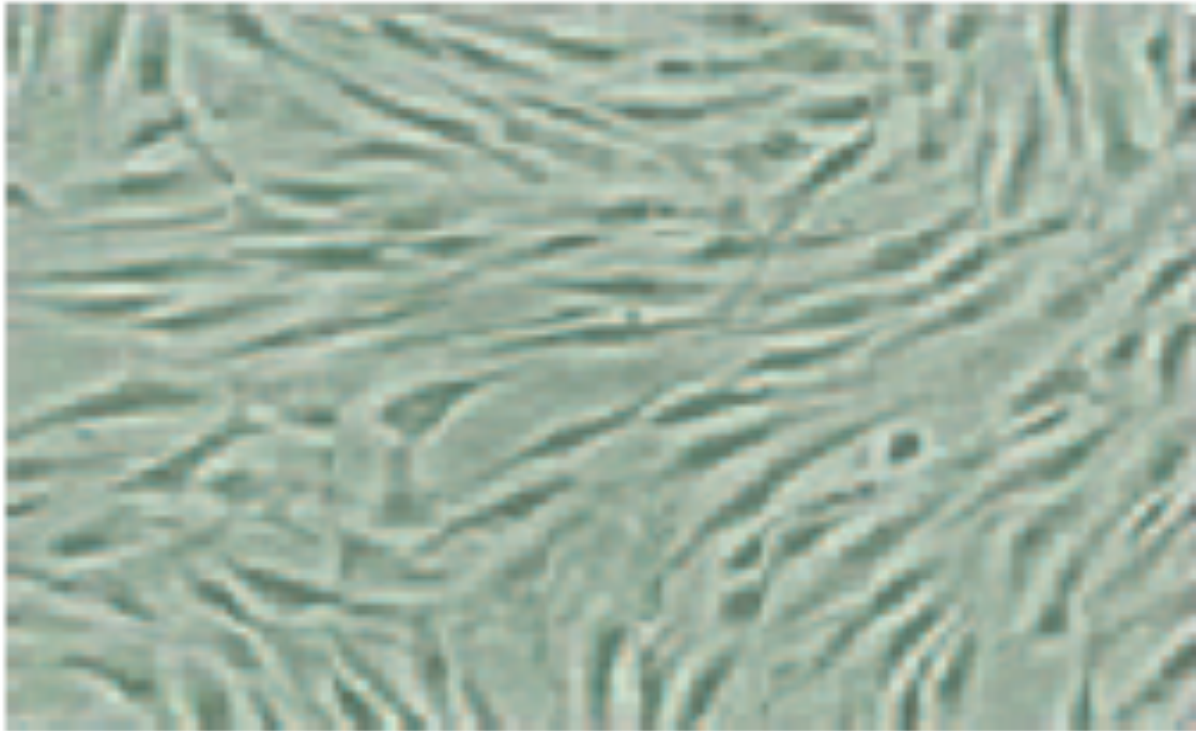
Hücreler **şekillerine ve görünüşlerine** göre

üç şekilde sınıflandırılırlar.



1.Fibroblast (Fibroblast benzeri):

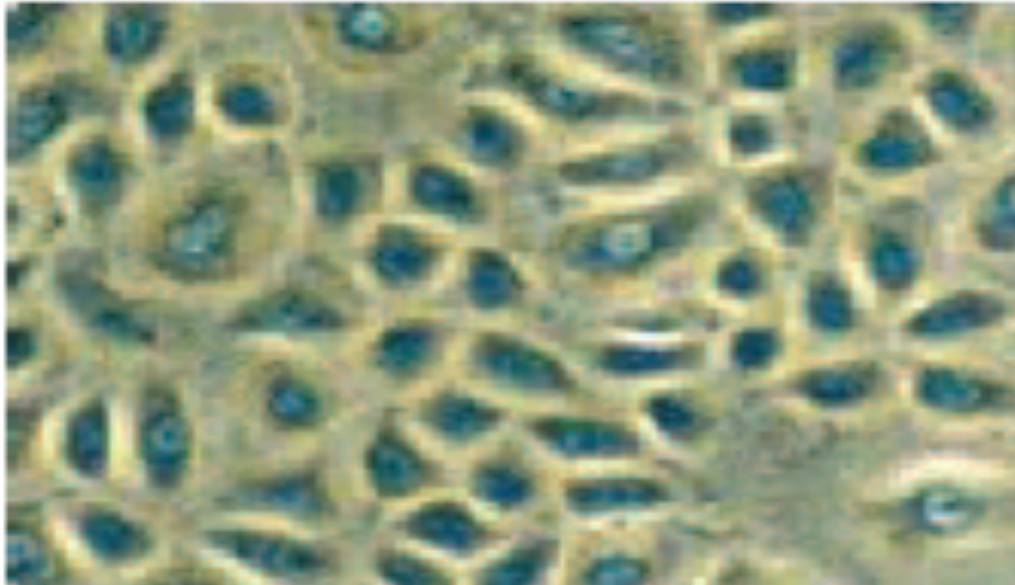
- ✓ **Bipolar veya multipolar, uzamış forma** sahiptirler.
- ✓ Yüzeye tutunarak büyürler.



2.Epiteliyal benzeri :

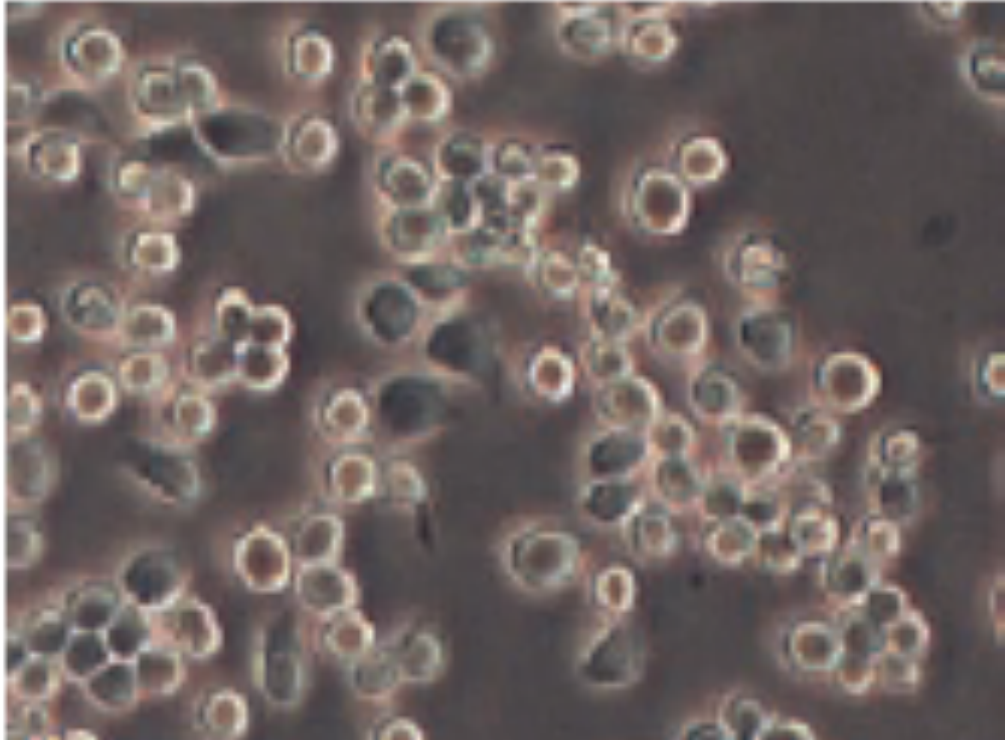
✓ **Poligonal** şekilde ve daha düzenli ebatlara sahiptir.

✓ Yüzeye tutunarak büyürler.

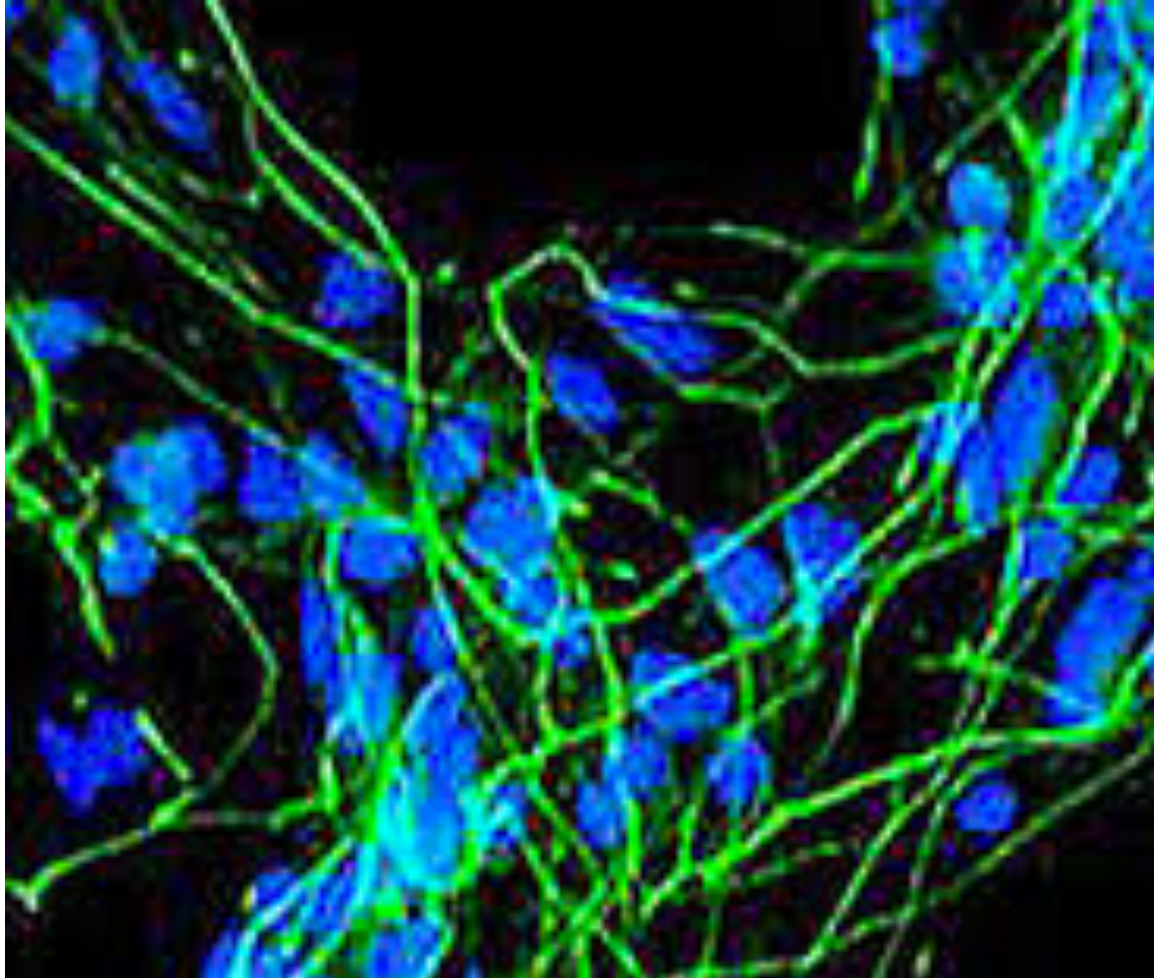


3.Lenfoblast benzeri:

- ✓ **Küre şeklinde ve süspansiyon** içinde büyürler.
- ✓ Yüzeye tutunmazlar.

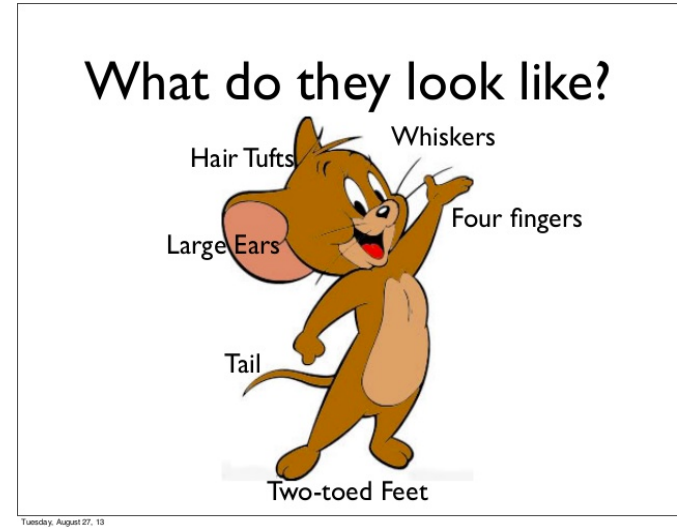
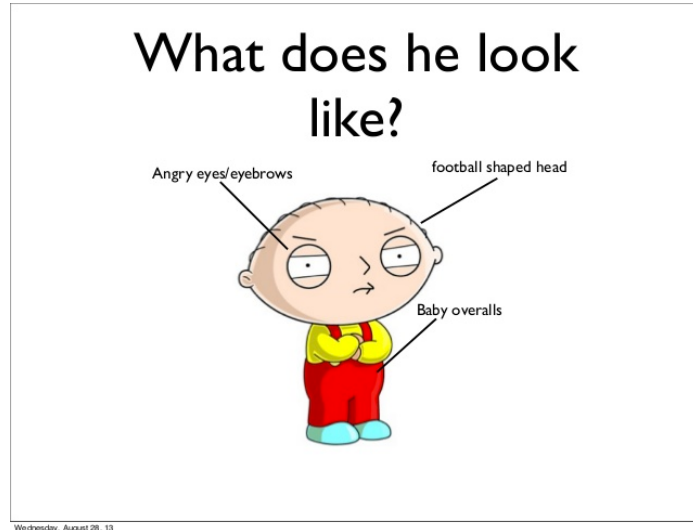


HÜCRE KARAKTERİZASYONU



KARAKTERİZASYON

- ✓ Chacterizasyon: Hücre nitelendirmesi veya hücre tanımlanması diye de Türkçe'ye çevrilebilir.
- ✓ Ama Türkce'de kullanımı olarak bakıldığında “Hücre karakterizasyon” şeklinde kullanıldığı görülmektedir.



NEDEN KARAKTERİZASYONA İHTİYAÇ DUYULUR?

- ✓ Hücre hattında her hangi bir **çapraz kontaminasyon** olup olmadığının anlaşılması veya tanımlanmanın yanlış yapılıp yapılmadığının doğrulanması
- ✓ Türün **orjininin** konfirme edilmesi
- ✓ Doku **orjinin belirlenmesi** (hangi hücre soyuna ait olduğu ve bu soyda hangi durumda bulunduğu -kök öncü yada farklılaşmış mı gibi-)

NEDEN KARAKTERİZASYONA İHTİYAÇ DUYULUR?

- ✓ **Transforme** olup olmadığını belirlenmesi (sonlu mu sonsuz mu, malignant özellik taşıyıp taşımadığı)
- ✓ Hücre hattının **genetik instabilite eğilimi ve fenotipik varyasyonlarının** belirlenmesi

Bu seçilmiş hücre hattının gereken bütün özellikleri gösterip göstermediğinin kontrol edilmesi için önemlidir.

Hücre Karakteristiğinin Bilinmesinin Ne Gibi Faydaları Vardır?

Hücre hattının kimliğinin ve özelliklerinin belirlenmesi tasarlanan deney suresince yapılacak gözlemler sonucunda,

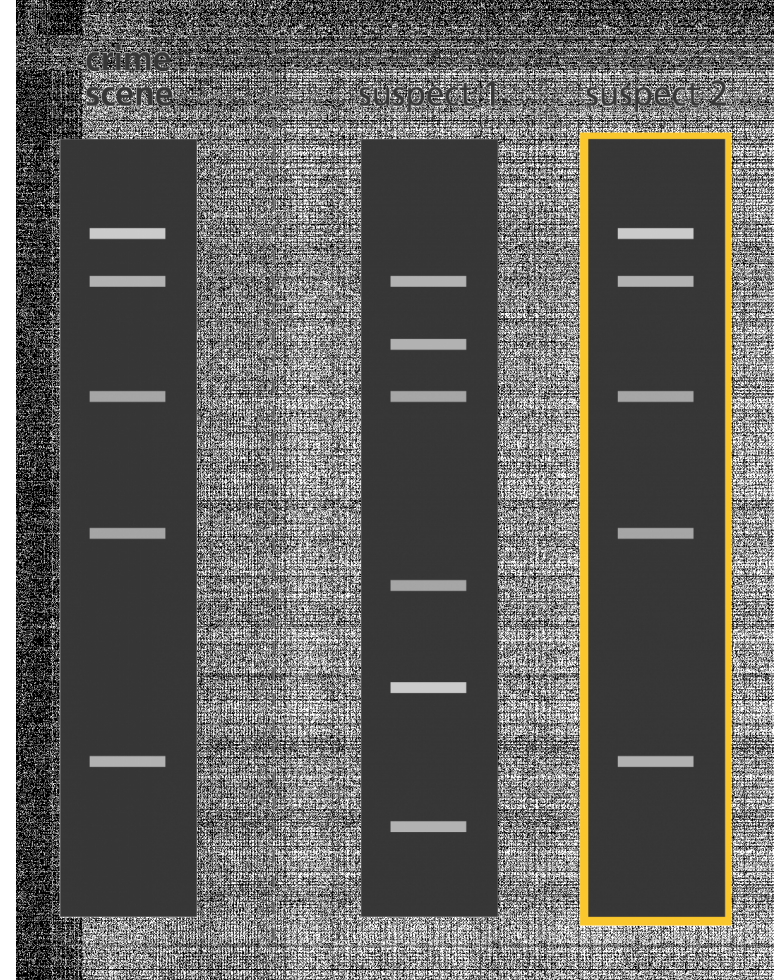
- Hücrenin genotipinde veya fenotipinde görülecek değişikliklerin belirlenmesi,
- Kontaminasyon olup olmadığının takibi,
- Hücrelerin hücre kültürü ortamında gelişiminin takibi,
- Hücrelerin yaşamsal gereksinimlerinin belirlenmesi için önemi çok büyüktür.

Karakterizasyon İçin Kullanılan Belirteçler ve Yöntemleri

- Hücre morfolojisi
- Kromozom Analizi
- DNA Analizi
- Antijenik İşaretciler
- Intermediate filament proteinler
- Enzim Aktivitesi
- İzoenzim Aktivitesi

KAYIT TUTULMASI VE KÖKEN

- ✓ Yeni bir hücre hattı geldiğinde yada primer kültürden hücre hattı elde edildiğinde, bütün bilgilerin kayıt altına alınması karakterizasyonun tam yapılması gerekmektedir.
- ✓ Bu hücre hattının devamında oluşacak değişimleri değerlendirebilmek için önemlidir.



cell bank	web site
American type culture collection (ATCC)	http://www.atcc.org
Coriell cell repository	http://www.locus.umdnl.edu/ccr
European collection of animal cell cultures (ECACC)	http://www.ecacc.org.uk
Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)	http://www.dsmz.de
Japanese collection of research bioresources (JCRB)	http://www.cellbank.nihs.go.jp
RIKEN gene bank	http://www.rtc.riken.go.jp

PC-3 (ATCC[®] CRL-1435[™])

Organism: ***Homo sapiens, human*** / Tissue: **prostate; derived from metastatic site: bone**

GENERAL INFORMATION

CHARACTERISTICS

CULTURE METHOD

SPECIFICATIONS

DOCUMENTATION

Organism

Homo sapiens, human

Tissue

prostate; derived from metastatic site: bone

Product Format

frozen

Morphology

epithelial

Culture Properties

adherent (The cells form clusters in soft agar and can be adapted to suspension growth)

Biosafety Level

1

Biosafety classification is based on U.S. Public Health Service Guidelines, it is the responsibility of the customer to ensure that their facilities comply with biosafety regulations for their own country.

Disease

grade IV, adenocarcinoma

Age

62 years adult

Gender

male

Ethnicity

Caucasian

Applications

This cell line is a suitable transfection host.

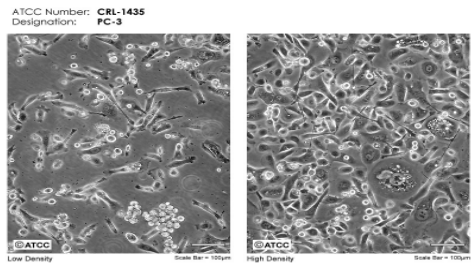
Storage Conditions

liquid nitrogen vapor phase

Karyotype

The line is near-triploid with a modal number of 62 chromosomes. There are nearly 20 marker chromosomes commonly found in each cell; and normal N2, N3, N4, N5, N12, and N15 are not found. No normal Y chromosomes could be detected by Q-band analysis.

Images



Derivation

The PC-3 was initiated from a bone metastasis of a grade IV prostatic adenocarcinoma from a 62-year-old male Caucasian.

Clinical Data

62 years adult
Caucasian
male
The PC-3 was initiated from a bone metastasis of a grade IV prostatic adenocarcinoma from a 62-year-old male Caucasian.

Antigen Expression

HLA A1, A9

Genes Expressed

HLA A1, A9

Tumorigenic

Yes

Complete Growth Medium

The base medium for this cell line is ATCC-formulated F-12K Medium, Catalog No. 30-2004. To make the complete growth medium, add the following components to the base medium: fetal bovine serum to a final concentration of 10%.

Subculturing

Volumes are given for a 75 cm² flask. Increase or decrease the amount of dissociation medium needed proportionally for culture vessels of other sizes. Corning® T-75 flasks (catalog #430641) are recommended for subculturing this product.

1. Remove and discard culture medium.
2. Briefly rinse the cell layer with 0.25% (w/v) Trypsin-0.53 mM EDTA solution to remove all traces of serum that contains trypsin inhibitor.
3. Add 2.0 to 3.0 mL of Trypsin-EDTA solution to flask and observe cells under an inverted microscope until cell layer is dispersed (usually within 5 to 15 minutes).
Note: To avoid clumping do not agitate the cells by hitting or shaking the flask while waiting for the cells to detach. Cells that are difficult to detach may be placed at 37°C to facilitate dispersal.
4. Add 6.0 to 8.0 mL of complete growth medium and aspirate cells by gently pipetting.
5. Add appropriate aliquots of the cell suspension to new culture vessels.
6. Incubate cultures at 37°C.

Subcultivation Ratio: A subcultivation ratio of 1:3 to 1:6 is recommended

Medium Renewal: 2 to 3 times per week

Cryopreservation

Freeze medium: Complete growth medium supplemented with 5% (v/v) DMSO

Storage temperature: liquid nitrogen vapor phase

Culture Conditions

Atmosphere: air, 95%; carbon dioxide (CO₂), 5%

Temperature: 37°C

STR Profile

Amelogenin: X

CSF1PO: 11

D13S317: 11

D16S539: 11

D5S818: 13

D7S820: 8,11

THO1: 6,7

TPOX: 8,9

vWA: 17

KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

Morfolojik Değerlendirme;

- Hücrelerin karakterizasyonunda morfolojinin izlenmesi ve değerlendirilmesi en basit ve direk yöntemdir.
- Hücrelerin **şekli, yapısı ve büyüklüğünün** incelenmesidir.

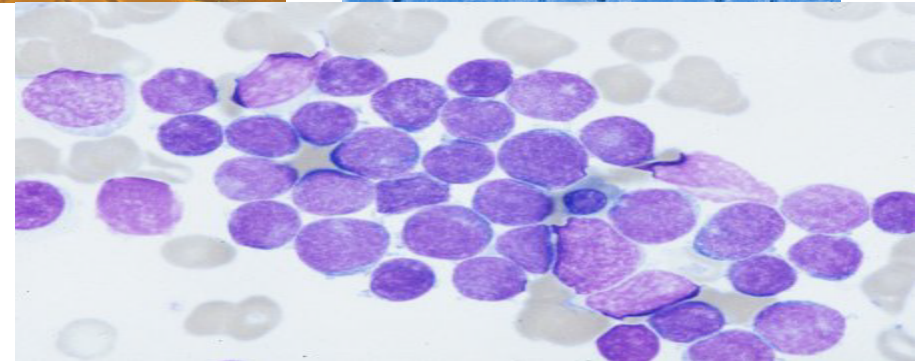
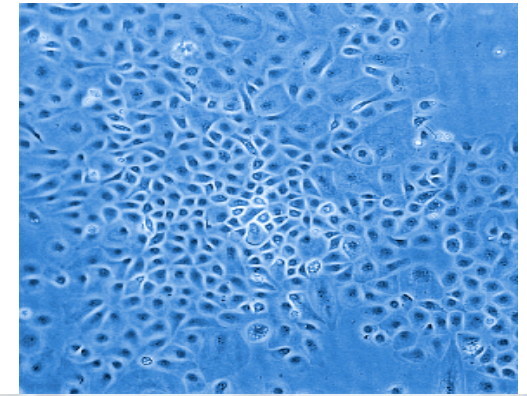
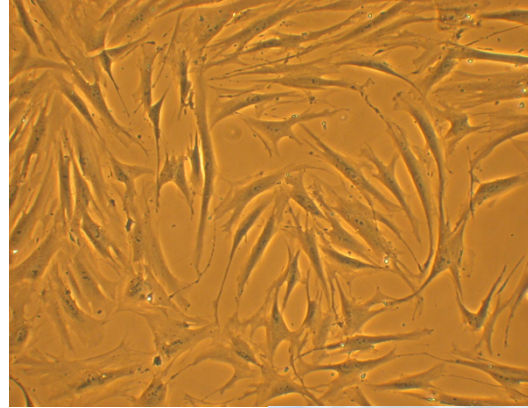
Morfolojik Değerlendirme;

Çoğu hücre morfoloji olarak 3 temel kategoride değerlendirilir;

✓ **Fibroblastik**

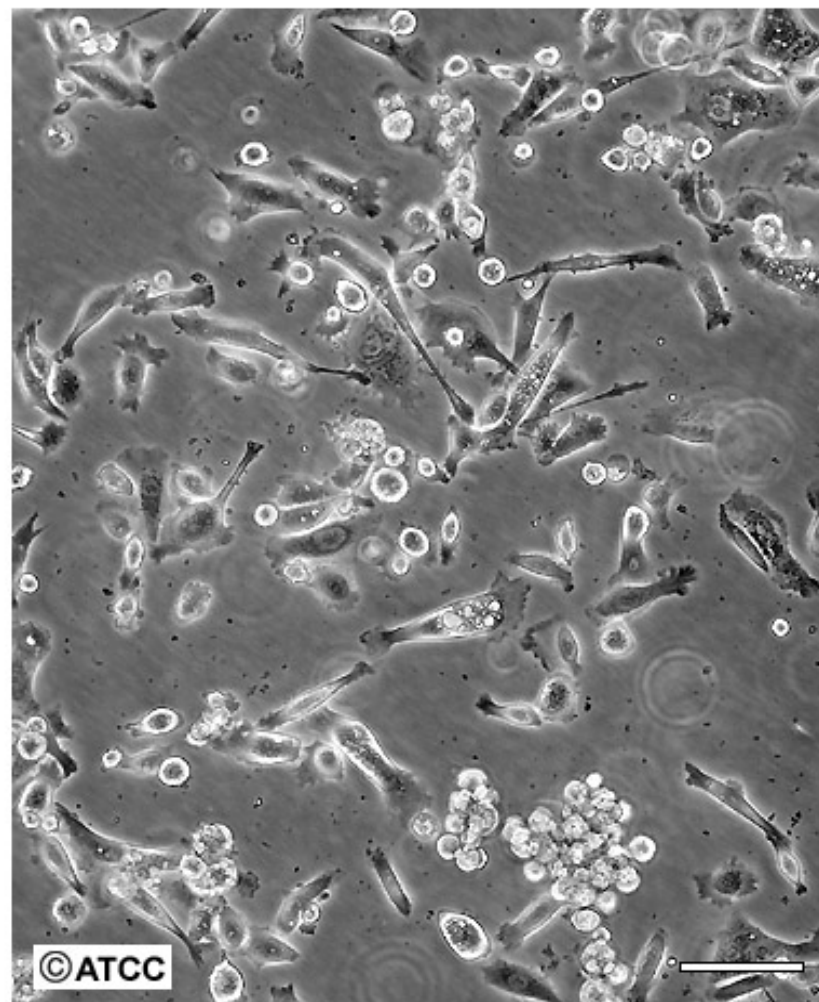
✓ **Epitelyal**

✓ **Lenfoblastik**



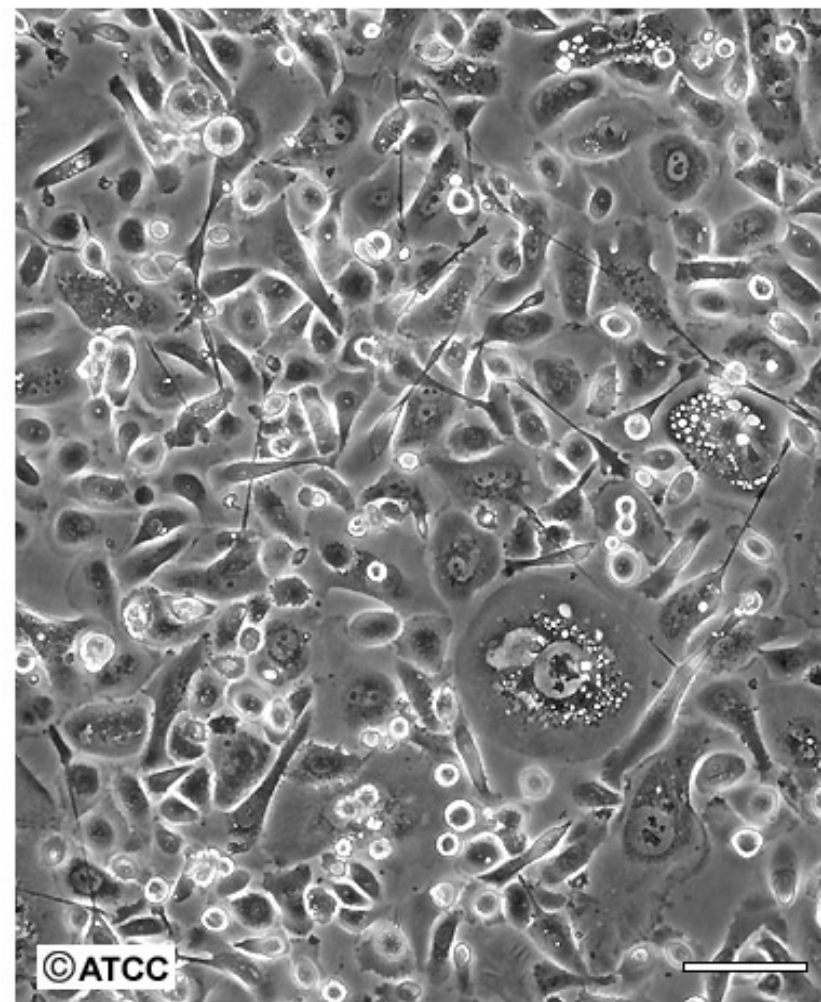
ATCC Number: **CRL-1435**

Designation: **PC-3**



Low Density

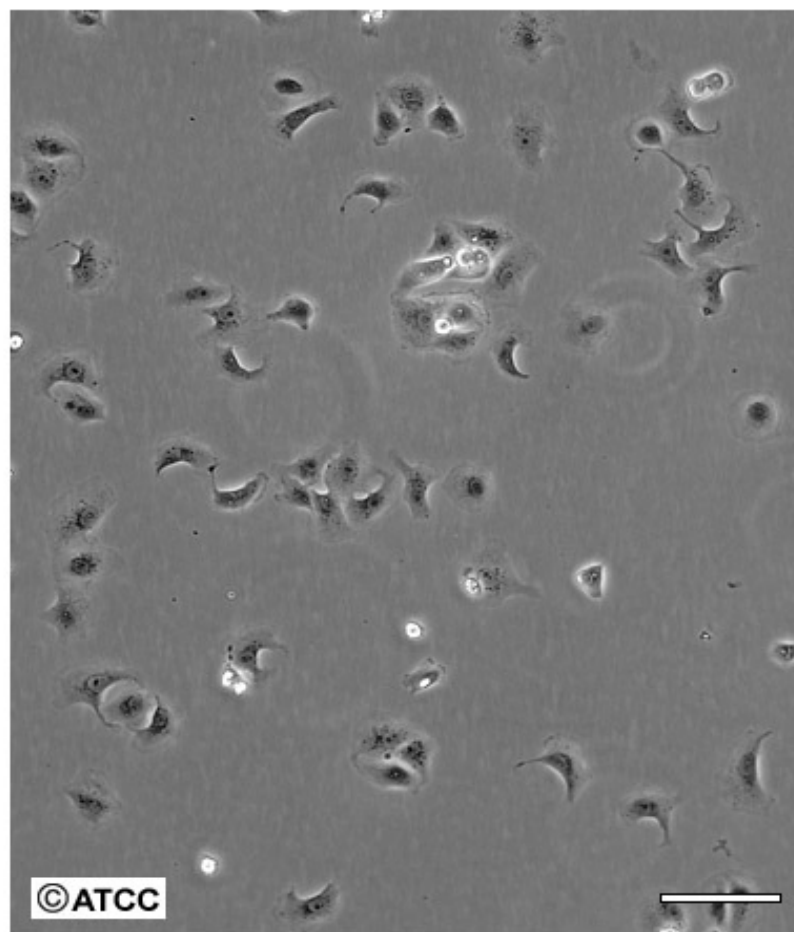
Scale Bar = 100µm



High Density

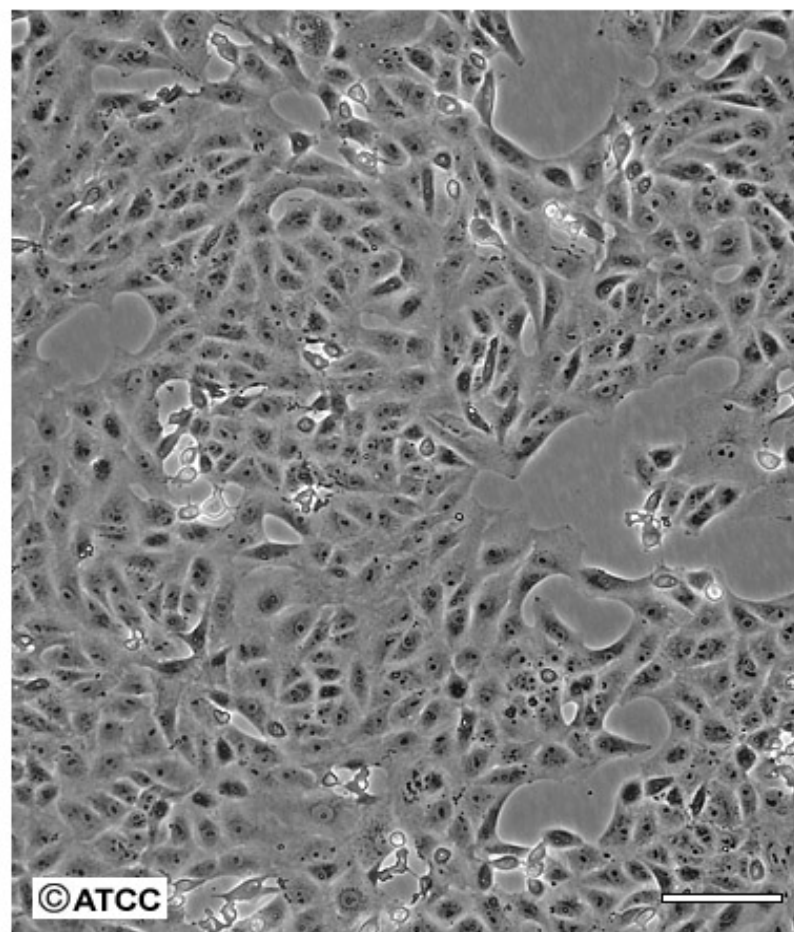
Scale Bar = 100µm

ATCC Number: **CCL-81**
Designation: **Vero**



Low Density

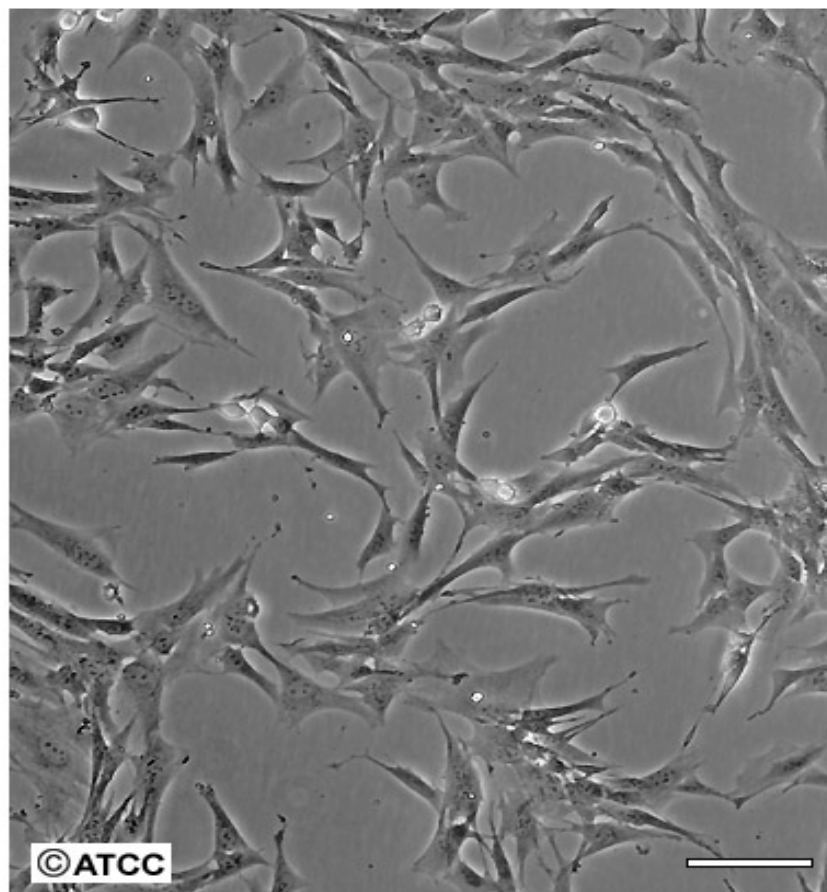
Scale Bar = 100µm



High Density

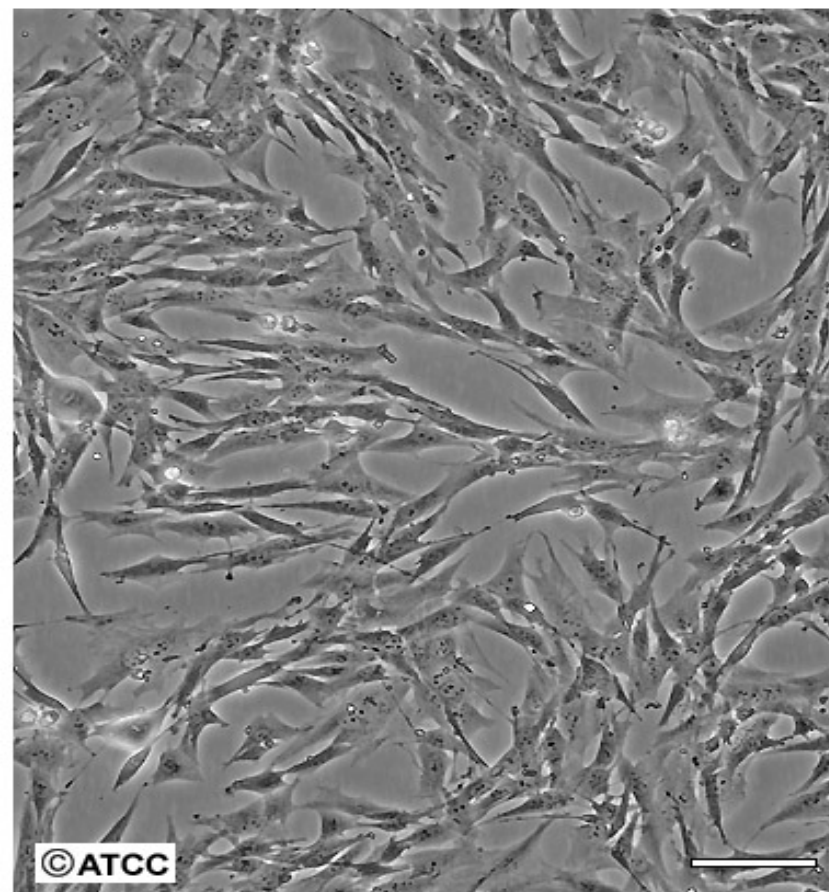
Scale Bar = 100µm

ATCC Number: **CCL-10**
Designation: **BHK-21**



Low Density

Scale Bar = 100µm



High Density

Scale Bar = 100µm

KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

Morfolojik Değerlendirme;

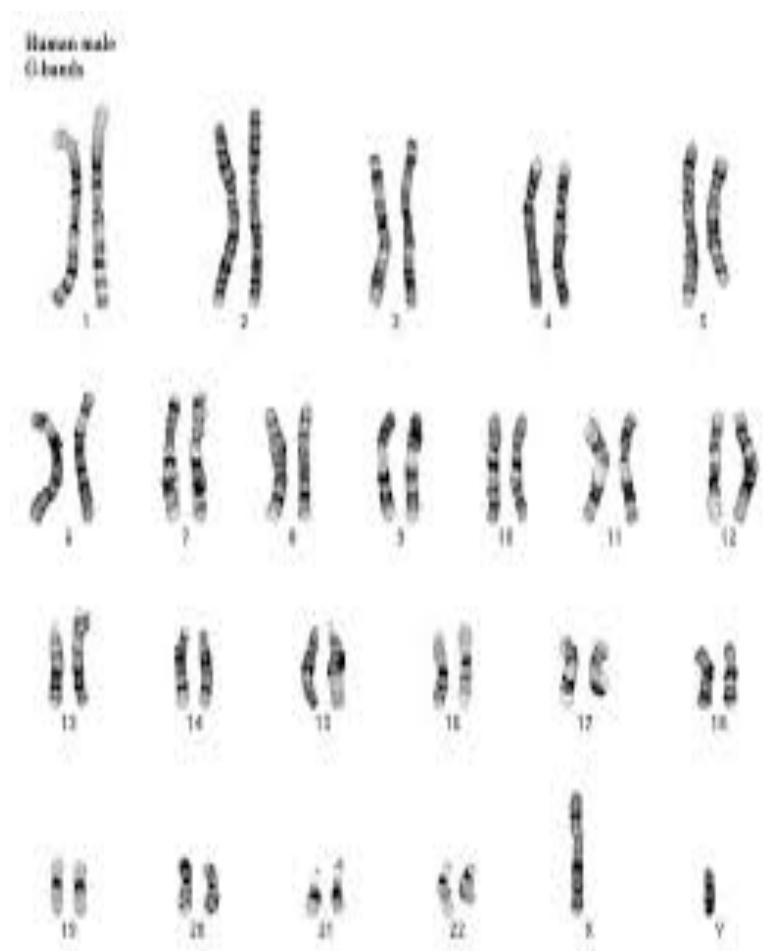
Morfolojik değerlendirmenin bir kısım eksiklikleri vardır.

- ✓ Farklı kültür koşullarına hücrelerin morfolojik tepkisi ile ilgilidir.
- ✓ Besi yeri ortamında görülen bir kısım değişiklikler hücre morfolojisini etkileyebilir.
- ✓ Hücrelerin sağlığı açısından sürekli morfoloji takibi yapmak önemlidir.
- ✓ Hücreler karşılaştırmalı olarak takip edilerek morfolojik değişimler gözlemlenebilir.

TÜR BELİRLENMESİ

- Karyotipleme en geleneksel metottur.
- **Karyotip; kromozomların** ökaryotik hücre çekirdekleri içerisindeki **sayı ve görüntüsüdür.**
- Karyotiplemede **kromozomlar çiftler halinde,** **boyut ve sentromerlerinin** pozisyonuna göre sıralanırlar.

KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ



KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

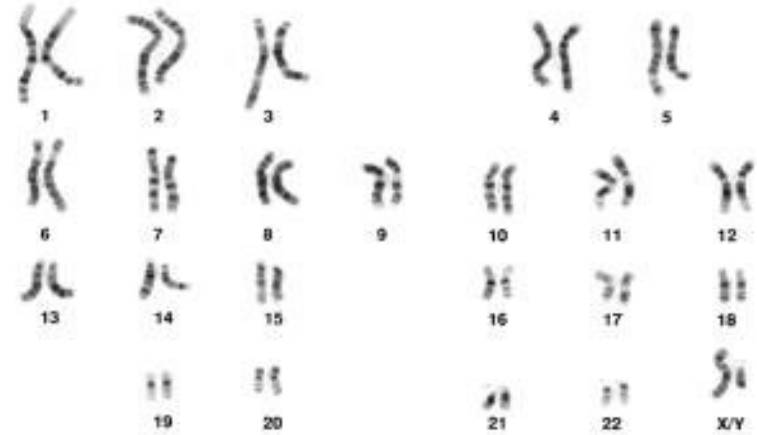
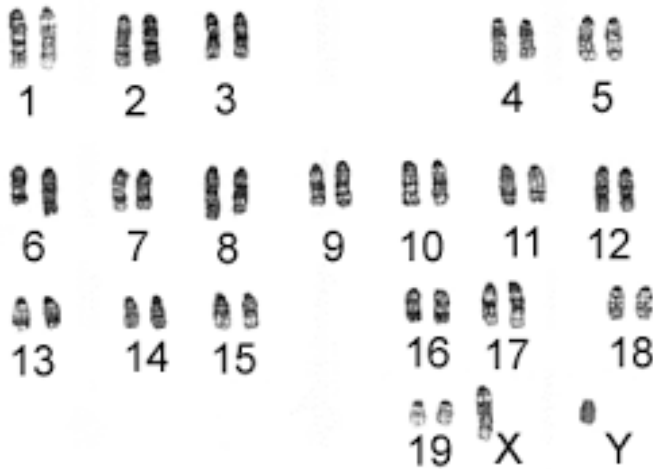
Karyotipleme yapılırken;

- Kromozom **sayılarının** tespit edilmesi
- Kromozom **boyplarının** tespit edilmesi
- **Sentromer pozisyonlarının** tespit edilmesi
- Heterokromatik bölgelerin analizi



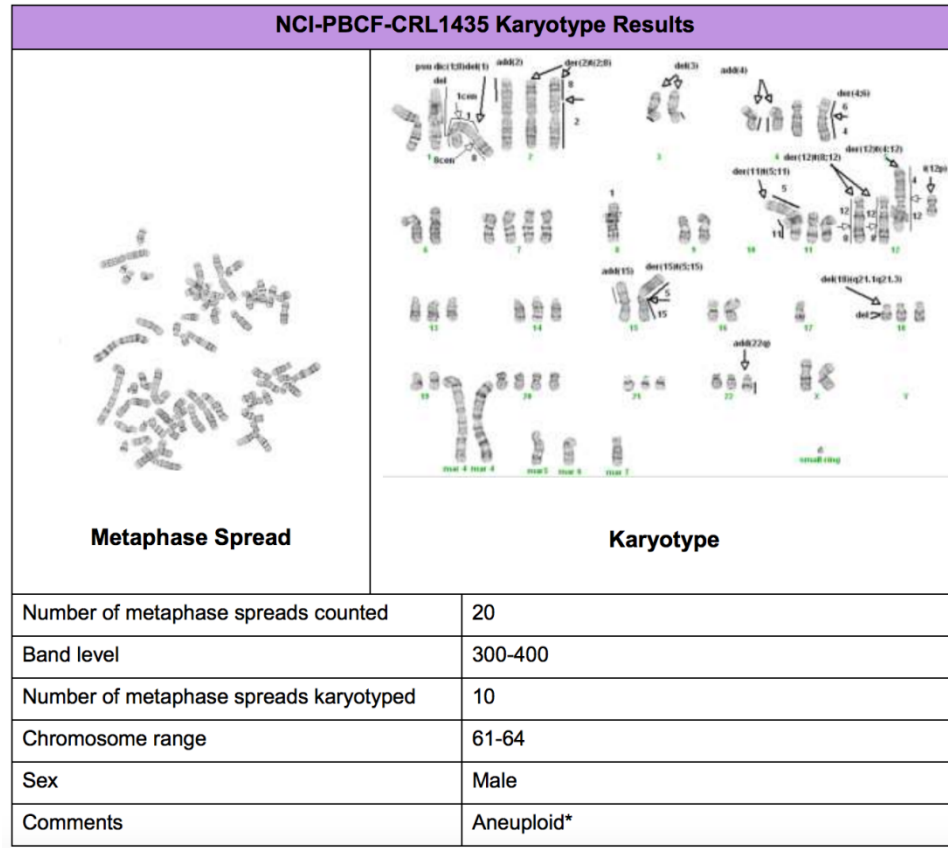
KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

- Fare ve insan hücrelerinin ortak kullanıldığı laboratuvarlarda **capraz kontaminasyonun** belirlenmesinde önemlidir.
- Limitlidir. Farklı insan hücre hatlarının kullanıldığı laboratuvarlarda oluşabilecek capraz kontaminasyonların belirlenmesinde yetersiz kalır.



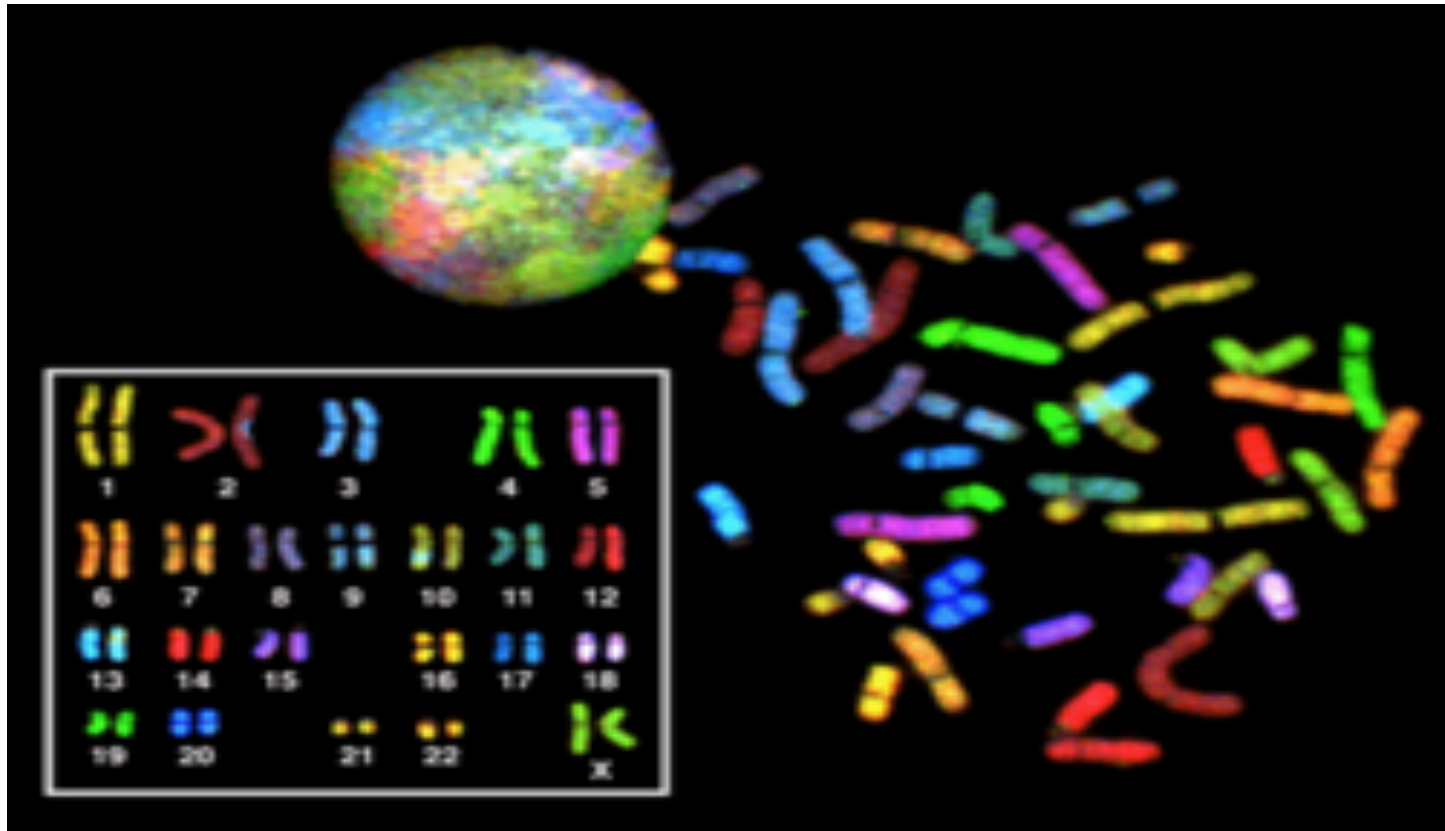
KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

✓ Karyotip analizi ile genom stabilitesi de değerlendirilebilmektedir.



KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

Spectral karyotyping (SKY)



KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

Hücrelerin Orijininin Belirlenmesi;

DNA miktar analizi

- DNA içeriği **PI (propidium iodide)**, **Hoechst 33258**, **DAPI** gibi DNA'yı boyayan boyalar yardımıyla özellikle transforme olmuş hücreleri tespit etmek için kullanılır.
- Transforme olan hücreler anoploid veya heteroploid oldukları için kolaylıkla ayırt edilebilirler.
- Bu yöntemin kullanılabilmesi için popülasyondaki çoğunluk hücrenin transforme olmuş olması gereklidir.

KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

Hücrelerin Orijininin Belirlenmesi;

DNA hibridizasyonu

- Çeşitli **problar** kullanılır ve bu **probların hedef dizilerine hibridize olması** ile analiz yapılır.
- **Türe özgü** dizilere bağlanan **problar** kullanılabilir.
- **Hücre hattına özgü baz veya baz dizisini hedefleyen problar** kullanılabilir
- **Amplifiye** olmuş bölgelere özgü problar kullanılabilir.

KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

Hücrelerin Orijininin Belirlenmesi;

DNA fingerprint analizi

- DNA üzerinde kişiye özgü parmakizi özelliği gösteren **varyant bölgelerin analizi**
- **Tek Nukleotit Polimorfizmi (SNP)**
- **Restriksiyon Fragman Boyu Polimorfizmi (RFLP)**
- **Kısa Tandem Tekrarlar (STR)**

KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

- **Hücrelerin Orijininin Belirlenmesi;**

STR Profile

Amelogenin: X

CSF1PO: 11

D13S317: 11

D16S539: 11

D5S818: 13

D7S820: 8,11

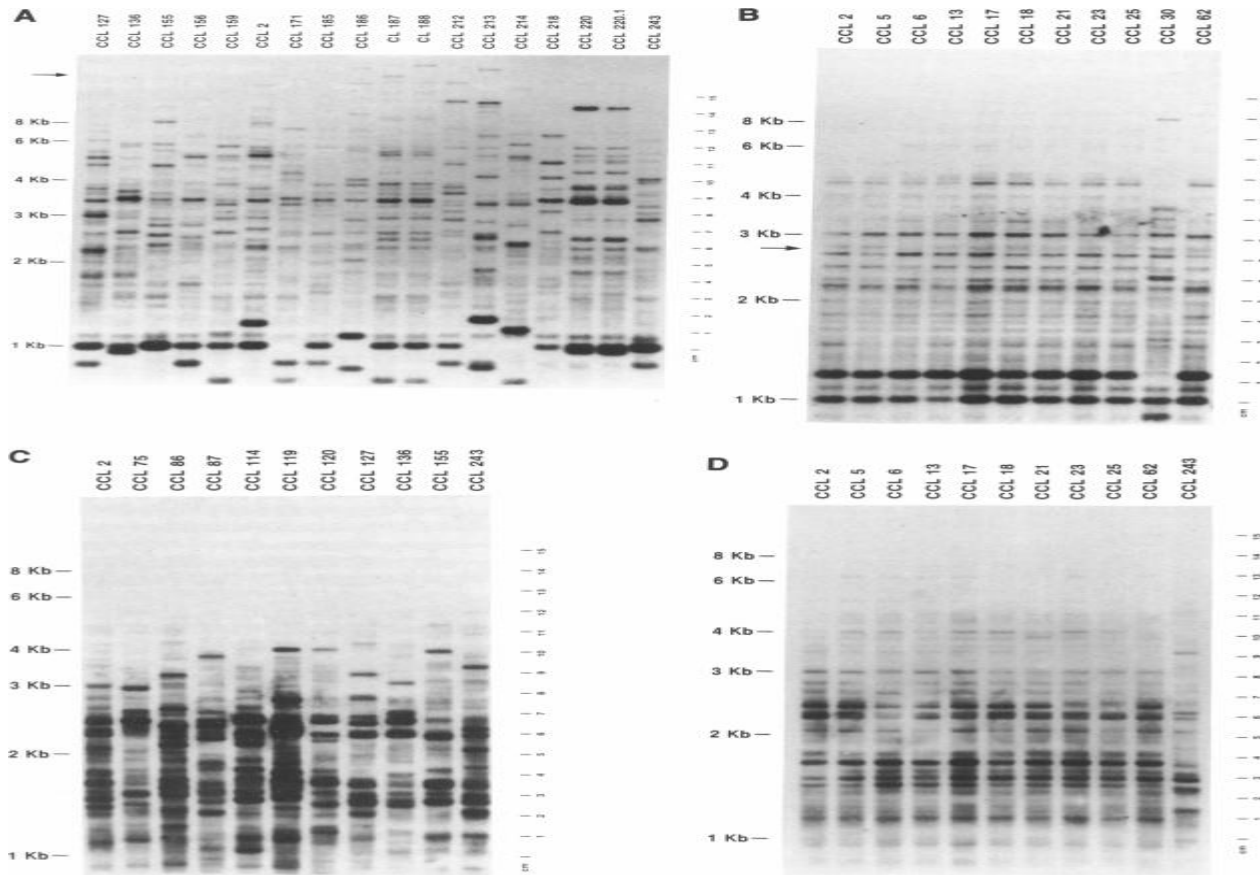
THO1: 6,7

TPOX: 8,9

vWA: 17

KARAKTERİZASYON PARAMETRELERİ

- Hücrelerin Orijininin Belirlenmesi;



HÜCRE KÖKENİ DOKU İŞARETCİLERİ

Hücre yüzey antijenleri;

- Bu markerlar hometopoetik hücreler ve epitelyum için kısmen kullanışlıdır.

HÜCRE KÖKENİ DOKU İŞARETCİLERİ

Hücre yüzey antijenleri;

Intermediate filament proteinler;

- ✓ **GFAP** → astrositler
- ✓ **Desmin** → kaslara spesifik
- ✓ **Sitokeratin** → epitel hücreler ve mezotelyum,
- ✓ **Norofilamentler** → noronlar ve nöroendokrin hücreleri
- ✓ **Vimentin** → mezodermal kökenli hücrelerde (in vivo) in vitroda ise diğer hücre tiplerinde de görülebilir.

Hücre yüzey antijenleri;

Cell type	Antibody to	Localization	Specificity	Comments
Anterior pituitary	hGH	Golgi and secreted	High	
Astroglia	GFAP	Intermediate-filament cytoskeleton	High	(See also Table 22.3)
B-cells	CD22	Cell surface	High	Co-receptor for B-cell receptor (BCR)
B-cells, immature	CD20	Cell surface	High	Not in plasma cells
Breast epithelium	α -Lactalbumin, casein	Golgi and secreted	High	Needs differentiation induction
Colorectal and lung adenocarcinoma	CEA	Cell surface and Golgi	Intermediate	Cell adhesion molecule
Endothelium	Factor VIII	Weibel-Palade bodies	High	Granular appearance diagnostic
Epithelium	V-CAM	Cell surface	High	Cell adhesion molecule
	L-CAM	Cell surface	High	Cell adhesion molecule
	Cytokeratin	Intermediate-filament cytoskeleton	High	Some antibodies also stain mesothelium; specific antibodies for different epithelia
	EMA	Cell surface	High	Same antigen as HMFG
	HMFG I & II	Cell surface	High	Same antigen as EMA

Hücre Kökeni Doku İşaretcileri

Enzimler

- ✓ Dokuya spesifik enzimler vardır.
- ✓ Enzim karakterizasyonunda 2 parametre vardır.
 1. Esas seviye (uyaran olmadığı durum)
 2. Uyarılmış ya da adaptif seviye (uyaran olduğu durumlarda)

Hücre Kökeni Doku İşaretcileri

Enzyme	Cell type	Inducer	Repressor	Reference
Alkaline phosphatase	Type II pneumocyte (in lung alveolus)	Dexamethasone, oncostatin, IL-6	TGF- β	Edelson et al., 1988; McCormick & Freshney, 2000
Alkaline phosphatase	Enterocytes	Dexamethasone, NaBt		Vachon et al., 1996
Angiotensin-converting enzyme	Endothelium	Collagen, Matrigel		Del Vecchio and Smith, 1981
Creatine kinase BB	Neurons, neuroendocrine cells, SCLC			Gazdar et al., 1981
Creatine kinase MM	Muscle cells	IGF-II	FGF-1,2,7	Stewart et al., 1996
DOPA-decarboxylase	Neurons, SCLC			Chung et al., 2006; Gazdar et al., 1980
Glutamyl synthetase	Astroglia (brain)	Hydrocortisone	Glutamine	Hallermeyer & Hamprecht, 1984
Neuron-specific enolase	Neurons, neuroendocrine cells			Hansson et al., 1984
Nonspecific esterase	Macrophages	PMA, Vitamin D ₃		Murao et al., 1983
Proline hydroxylase	Fibroblasts	Vitamin C		Pinnel et al. 1987
Sucrase	Enterocytes	NaBt		Pignata et al., 1994; Vachon et al., 1996
Tyrosinase	Melanocytes	cAMP		Park et al., 1993, 1999
Tyrosine aminotransferase	Hepatocytes	Hydrocortisone		Granner et al., 1968

Hücre Kökeni Doku İşaretcileri

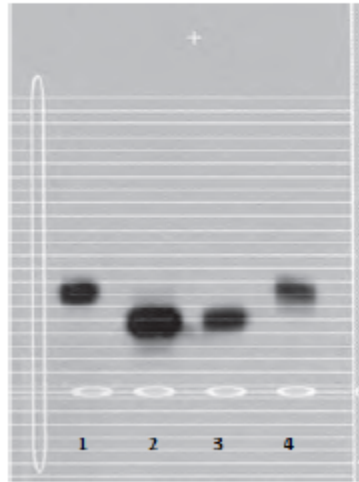
İzoenzimler

Enzim aktiviteleri karşılaştırılırken **enzim protein polimorfizmleri**, bazen hızları göz önüne alınarak da belirlenebilir. İşte dokudan dokuya değişen bu enzimlere **izoenzimler** denir.

- ✓ Kromotografik, yada elektroforetik olarak karşılaştırılabilirler.
- ✓ Örneğin, **Kreatin kinaz CKMM izoenzimi kaslarda** bulunurken,
- ✓ **CKBB** ise **noronal ve noroendokrin hücrelerde** karakterizedir.

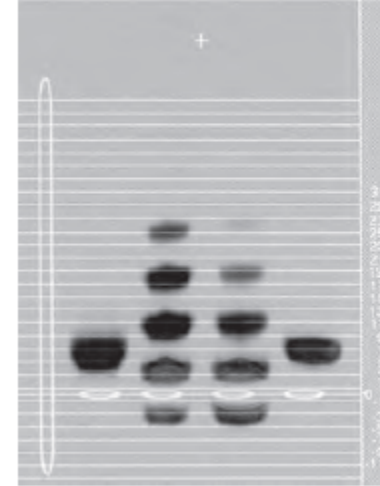
Hücre Kökeni Doku İşaretcileri

İzoenzimler



Glucose-6-fosfat dehidrogenaz

1. Fare
2. İnsan
3. İnsan
4. Çin hamsteri



Laktad dehidrogenaz

Hücre Kökeni Doku İşaretcileri

İzoenzimler

- Nucleoside phosphorylase
- Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)
- Malate dehydrogenase (MD)
- Lactate dehydrogenase (LD)
- Aspartate aminotransferase (AST)
- Mannose-6-phosphate isomerase (MPI)
- Pep*dase B (Pep B)

Cell line_	Organism_	Origin tissue_	Morphology_
BEAS-2B	Human	Lung	Epithelial
BHK-21	Hamster	Kidney	Fibroblastic
HL-60	Human	Myeloblast	Blood cells
MDCK II	Dog	Kidney	Epithelium
CHO	Hamster	Ovary	Fibroblast

Phosphate Buffered Saline (PBS)

- ✓ Hücre içi ve dışındaki ozmotik basıncı dengede tutan bir tuz solüsyonudur.
- ✓ İçeriğindeki inorganik tuzlar ve su, hücre metabolizmasını destekler.
- ✓ pH tamponlayarak hücreler için uygun bir ortam sağlar.
- ✓ Kalsiyum ve magnezyum iyonları içermez.



Phosphate Buffered Saline (PBS)

- ✓ Hücre içi ve dışındaki ozmotik basıncı dengede tutan bir tuz solüsyonudur.
- ✓ İçeriğindeki inorganik tuzlar ve su, hücre metabolizmasını destekler.
- ✓ pH tamponlayarak hücreler için uygun bir ortam sağlar.
- ✓ Kalsiyum ve magnezyum iyonları içermez.



Trypsin/EDTA

- Trypsin hücre pasajlamalarında kullanılan **temel enzimdir**.
- Trypsin, bir serin proteaz tipi enzimdir, **lizinin ve arginin aminoasitleri içeren peptidleri** yıkar.
- Laboratuvarlarda genellikle **%0,25 EDTA'lı** trypsin solusyonu kullanılmaktadır.
- -20°C'de saklanır, daha yüksek sıcaklıklarda bekleyen trypsinin aktivitesi düşer, bu yüzden alikotlanarak saklanması en uygundur.

Trypsin/EDTA

- ✓ Serum trypsin inhibitorlerini içerir, hücrelere trypsin uygulanmadan önce mutlaka bir kere Ca^{+2} ve Mg^{+2} içermeyen PBS ile yıkanmalı ve yüzeylerindeki serum uzaklaştırılmalıdır.
- ✓ Trypsin hücrelerin yüzeyini örtecek kadar uygulanır.
- ✓ Trypsin sıcaklık arttıkça daha etkili çalışır. Trypsin uygulanan hücreler inkubatore konduklarında daha çabuk yüzeylerden ayrılırlar, oda sıcaklığındaysa daha yavaş ayrılırlar.