

# Memeli Hücre Kültürü Ve Uygulaması

Hafta 7

Hücre Kültürü İçin Gereksinimler II

# Yıkama ve Sterilizasyon imkanları

- Çok çeşitli plastik doku kültürü malzemelerinin bulunması (disposable), gerekli yıkama miktarını azaltır.
- Bununla birlikte, pipetler gibi cam eşyalar uygun bir deterjanla ıslatılmalı, daha sonra kurutma ve sterilize edilmeden önce ultra saf suya tamamen batırılarak sıkı bir yıkama prosedüründen geçirilmelidir.
- Pipetler, sterilizasyon için kaplara konulmadan önce genellikle emici olmayan pamuk ile tıkanır. (tek kullanımlı olmayan pipetler)
- Şişeler, beherler (alüminyum folyo ile kaplanmış) gibi cam eşyalar, sıcak hava fırınında 160 ° C'de yada otoklavda bir saat boyunca sterilize edilir.
- Pipet uçları ve şişeler (gevşek bir şekilde tutturulmuş kapaklar) gibi diğer tüm ekipmanlar, 20 dakika boyunca 121 ° C'de otoklavlanır.

# Sıvı azot derin dondurucu

- Sürekli kullanılan hücreler ve hücre hatları her zaman, kültür örneklerinin depolanması ve dondurulmaları için gereklidir.
- Genetik değişiklikleri, kontaminasyon ve hücre hattının kaybını önlemek için hücrelerin dondurulması gereklidir.
- Hücrelerin dondurulması prosedürü kültürdeki tüm hücreler için geneldir.
- Genellikle dimetilsülfoksit (DMSO) ile dondurulmaları gereklidir.
- Hücreler yavaşça  $1\text{ }^{\circ}\text{C} / \text{dak}$  hızla  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye ulaşana kadar dondurulur ve daha sonra sıvı azot tankında sıvı fazda (kapalı cam ampullerde) veya gaz fazında (vidalı üst kriotüplerde)  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de tutulur.



# Distile Su Cihazı

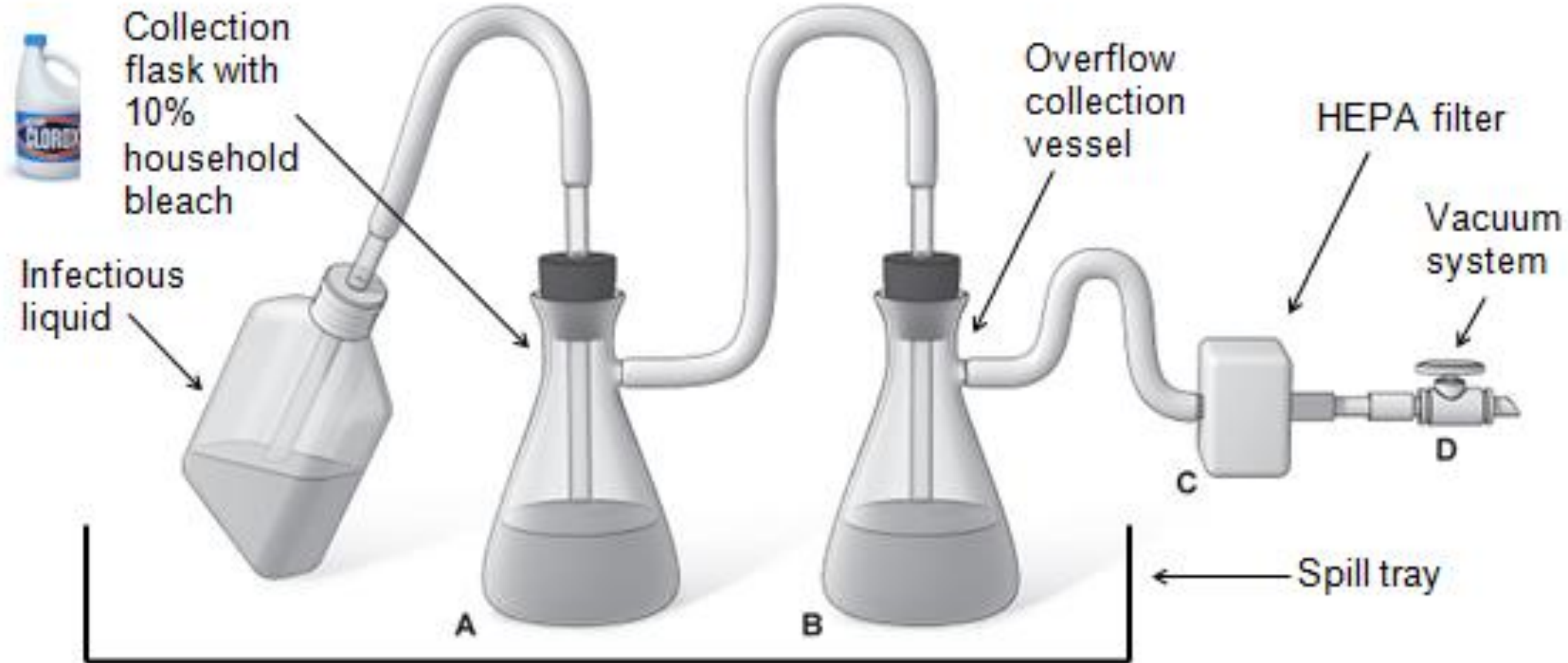
- **Ortamın hazırlanması ve cam kapların durulanması için çift distile temini gereklidir.**
- **Çift distile suyun pH'ı, bazı durumlarda değişebileceğinden düzenli olarak kontrol edilmelidir.**



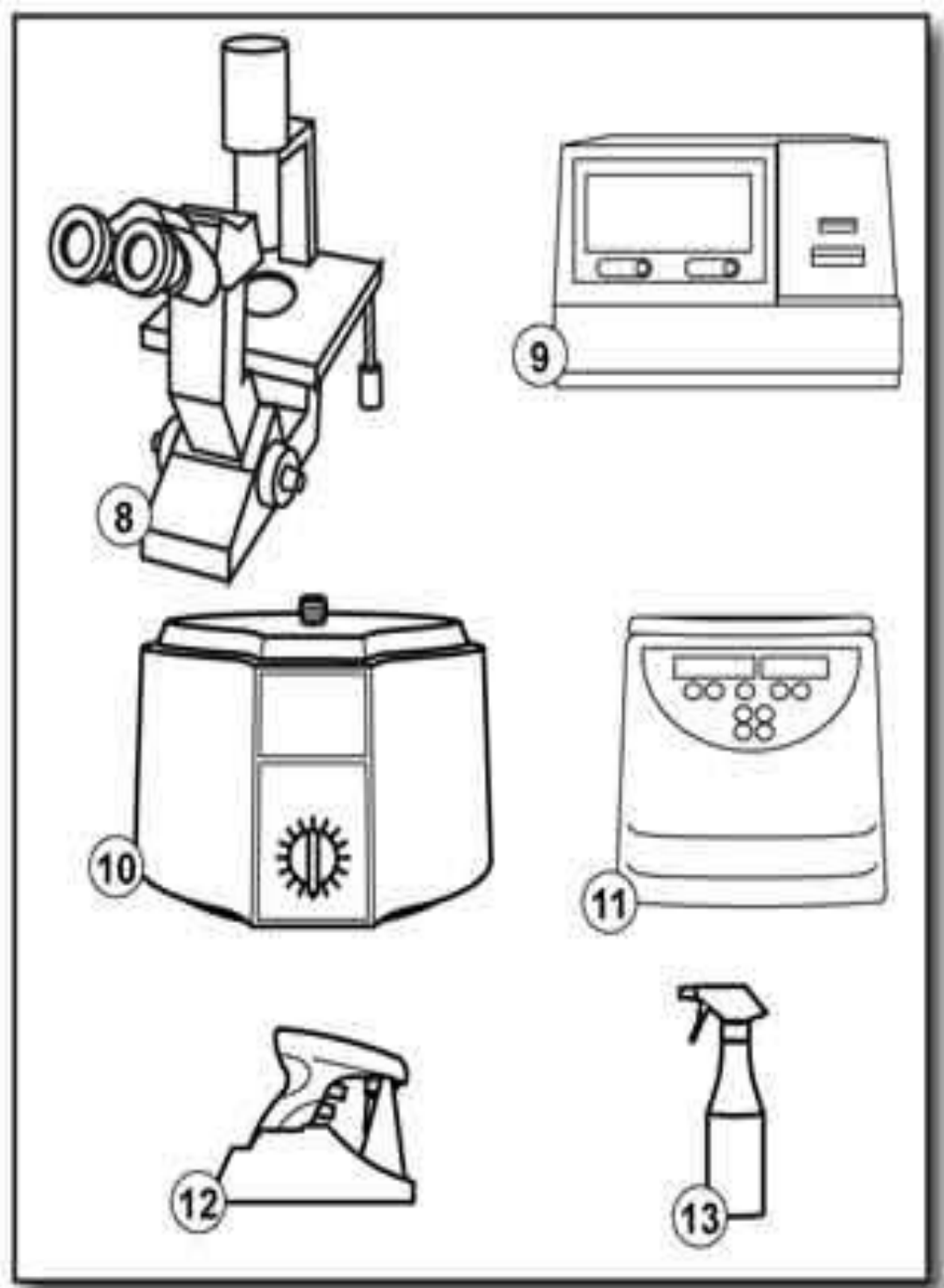
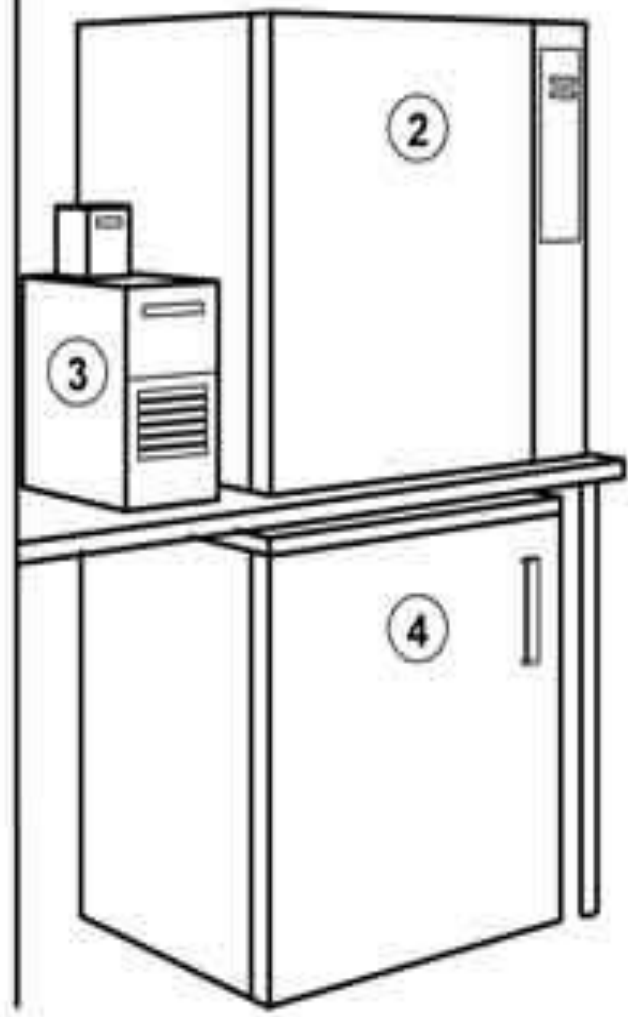
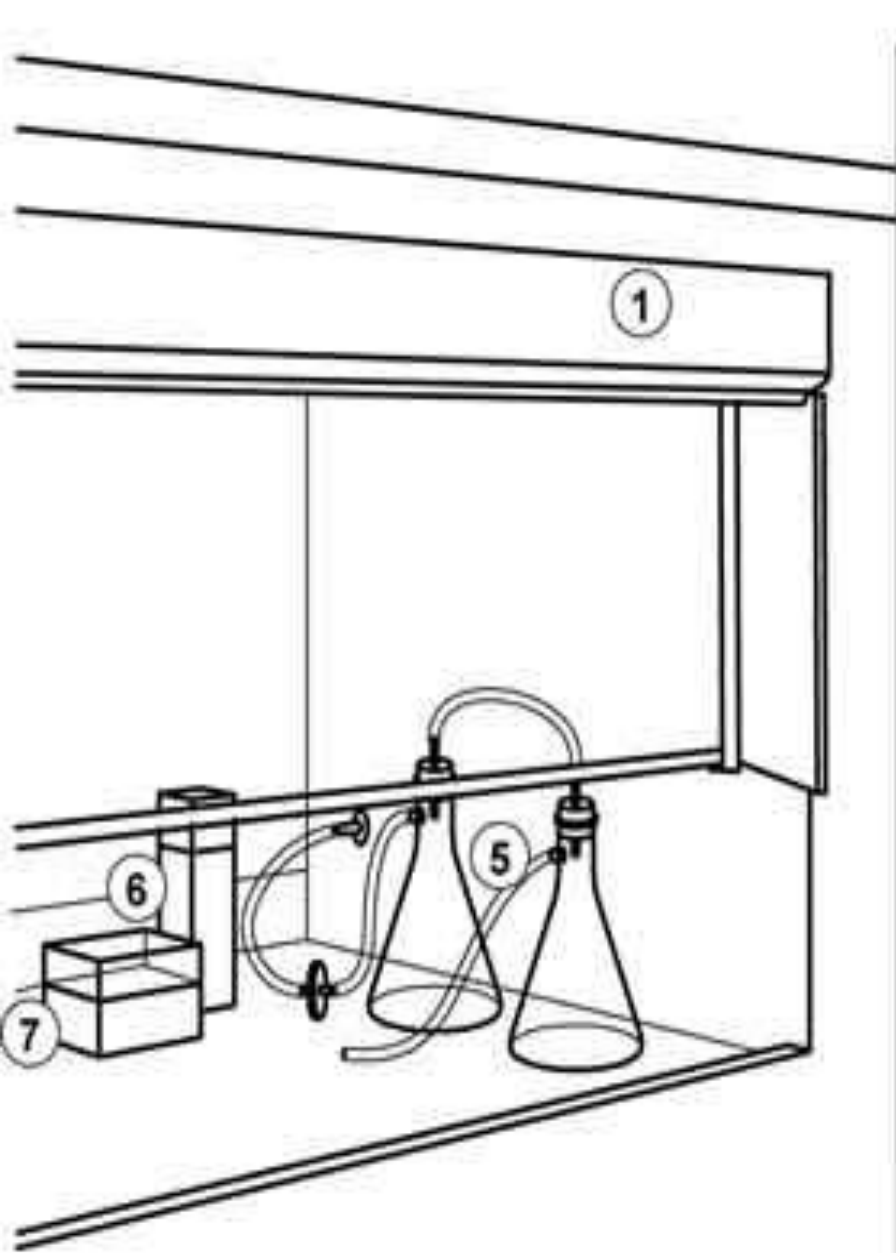


# Hücre Kültüründe Kullanılan Cihazlar

Gerekli ekipman	Faydalı ekipman	yararlı ek ekipman
İnkübaör	Laminer kabin	Düşük sıcaklık dondurucu
Strilizer	Hücre sayıcı	Cam malzeme bulaşık makinesi
mikroskop	Vakum pompa	Koloni sayıcı cihaz
Yıkama ekipmanları	Co2 inkübatör	Kademeli soğutucu
Sterilize eden ve kurutma fırını	İşık mikroskop	FACS
Su saflaştırma makinesi	Sıcaklık kayıt edici cihaz	
santrifüj	Otomatik pipet	
Hücre dondurma		







# Filtre Sterilizasyonu

- **Otoklavlanamayan ortam, 0.22 mm gözenek boyutundaki bir membran filtre ile sterilize edilmelidir.**
- **Bunlar, çeşitli hacimlerde filtre uygulanmasına izin vermek için çeşitli tasarımlarda elde edilebilir (örneğin Millipore, Gelman).**
- **Kültür ortamı, enzimler, hormonlar, kofaktörler ve bikarbonat tamponları otoklavlanamayan maddelere örnektir.**

# Diğer Gereksinimler

- (a) Sıcaklık
- (b) Kültür Ortamı
- (c) PH
- (d) Osmolalite
- (e) Buffer
- (f) Büyüme Faktörleri
- (g) Antibiyotikler ve Antimikotikler

# Kaynak:

- <http://www.biotechnologynotes.com/animals/animal-cell-culture-history-types-and-applications/671>