

## Laboratuvar Teknikleri

# Manyetik İşaretleme ile Hücre İzolasyonu

Hücrelerin yer aldığı tüm sistemlerde hücre izolasyonu ve kültürü çalışmaları yapılmaktadır. Hücre izolasyonunda laboratuvarlarda kullanılan klasik ve bilimsel olarak kabul edilmiş çeşitli metodlar vardır. Bilimsel sorumuz ve hipotezimiz sonrasında kurduğumuz deneysel yaklaşım planında, kültür ortamının ve hücrelerin çok iyi seçilmiş olması gerekmektedir. Genel immünolojik çalışmalarda venöz kandan periferik kan mononükleer hücreleri izole edilmekte ve çeşitli uyarımlarla kültürleri yapılmaktadır. T veya B hücre düzeyinde kültür çalışmaları ise daha ileri izolasyon tekniği gerektirmektedir. Son yıllarda allerji ve immünoloji alanında yayınlanan makalelerin deneysel kısmında tek hücre düzeyinde izolasyon çalışmaları göze çarpmaktadır.

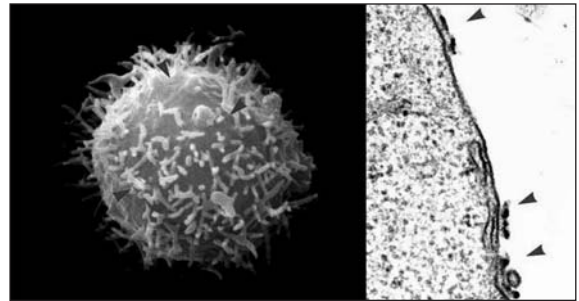
İnsan çalışmalarında olduğu gibi hayvan modeli çalışmalarında da tek hücre tipi izolasyonu ve kültürü immünoloji laboratuvarlarında yoğun olarak yapılmaktadır. İnsan çalışmalarından farklı olarak farelerde dalak, akciğer ve lenf nodu kolaylıkla alınıp, istenilen hücreler izole edilebilmektedir.

İmmünoloji alanındaki teknolojik gelişmeler sayesinde hücrelerin çeşitli yüzey reseptörleri manyetik boncuklarla işaretlenmekte ve istenilen hücreler izole edilmektedir. Bu şekilde farklı boncuklar kullanılarak insan, fare, sıçan ve maymunlardan çeşitli immünolojik hücreler (T-hücresi ve alt kümeleri, dendritik hücre, B hücresi ve alt kümeleri, monositler, antijen-sunan hücreler), kök hücreler, sitokin salgılayan hücreler izole edilebilmektedir. "Magnetic cell sorting and separation (MACS)" sistemiyle

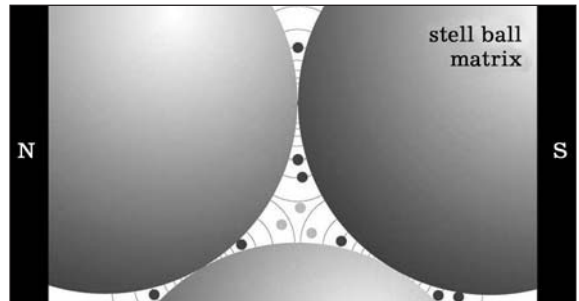
manuel veya otomatik (automacs) olarak yapılabilmektedir. Bu şekilde izolasyon tekniğindeki prensip aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Sistem 50 nm çapında süper paramanyetik özellikteki mikrobidlere (Şekil 1), manyetik alanın hücreler üzerine daha fazla etki etmesini sağlamak amacıyla kullanılan kolon (Şekil 2) ve manyetik alanı oluşturan seperatöre dayanmaktadır.

- Hücre seperasyonu kolon içerisinde gerçekleşir.



Şekil 1. 50 nm çapında mikrobid.



Şekil 2. Kolon içi matriks.

**Yazışma Adresi:** Dr. T. AKKOÇ

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Allerji, İmmünoloji ve Romatoloji Bölümü, İSTANBUL

- Kolon, seperatör içerisinde iken, güçlü manyetik alan dolayısıyla mikrobidlerle işaretli hücreler kolon içerisinde tutulur ve işaretli hücreler elde edilir.

- Kolon manyetik alandan uzaklaştırıldığında ise mikrobidlerle işaretli hücreler elde edilebilir.

- Bu şekilde işaretli ve işaretli hücreler elde edilir.

- Elde edilen hücreler ileri analizler için kullanılabilir.

- Reagentlar ile pozitif seleksiyon, depleksiyon ve alt küme izolasyonu yapılabildiği gibi, direkt ve indirekt bağlanma stratejileri uygulanabilir.

#### **T. AKKOÇ**

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Allerji, İmmünoloji ve  
Romatoloji Bölümü  
İSTANBUL