

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Meme Kanseri Araştırmaları İçin Bir Çip-Üstü-Organ
Sistemi**

Ece KOCAMAZ

Doku Mühendisliği Anabilim Dalı

Temmuz, 2025

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

**Meme Kanseri Araştırmaları İçin Bir Çip-Üstü-Organ
Sistemi**

Ece KOCAMAZ

Doku Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi 08/07/2025 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Değerlendirilmiş ve Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Prof. Dr. Çetin CANPOLAT (Danışman)

Jüri : Dr. Öğr. Üyesi Veli ÖZBOLAT

Jüri : Doç. Dr. Merve ÇAPKIN YURTSEVER

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Doku Mühendisliği Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER

Enstitü Müdürü

**Bu tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Araştırma
Üniversiteleri Destek Programı Kapsamında Desteklenmiştir.**

Proje No: TSA-2024-16567

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere
tabidir.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1. Kanser	3
2.2. Meme Kanseri	4
2.2.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi.....	5
2.2.2. Meme Kanseri Tanı Yöntemleri.....	5
2.2.3. Meme Kanseri Alt Tipleri	6
2.3. Kanser Modellemesi	7
2.3.1. İki Boyutlu-Üç Boyutlu (2B-3B) Modelleme	8
2.3.2. Organoidler	9
2.4. Çip-Üstü-Organ Sistemleri	10
2.4.1. Çip-Üstü-Organ Mikroakışkan Çipinin Üretimi	12
2.2.1. Çip-Üstü-Organ Sistemlerinde Perfüzyon Akış	13
2.5. Organoidlerin Çip-Üstü-Organ Sistemlerinde Kullanımı	16
2.5.1. Organoidlerin Çip-Üstü-Organ Sistemlerinde Kültürü	16
2.5.2. Çip-Üstü-Organ Çipinin ve Organoidin Karakterizasyonu.....	17
2.6. Çip-Üstü-Organ Sistemlerinde İlaç Testleri.....	19
2.6.1. Kullanılan İlaçlar.....	20
2.6.2. Dozaj Seçimi	20
2.7. Gelecek Perspektifleri	21
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Çip-Üstü-Organ Tasarımı ve Üretimi	23
3.1.1. Kalıp Üretimi	23
3.1.2. Çip-Üstü-Organ Platform Üretimi	23
3.1.3. Sterilizasyon ve Hazırlık	23
3.2. Stoktan Hücre Çözme ve Organoid Oluşturulması	23
3.2.1. Stoktan Hücre Çözme	23
3.2.2. Organoid Oluşturulması	24

3.3. Çip-Üstü-Organ Sisteminde İlaç Testleri.....	24
3.3.4. Mikroçipte İlaç Uygulama Protokolü.....	26
3.3.5. Statik Kültür Koşullarının Değerlendirilmesi	26
3.3.6. İmmüno Floresan Boyama ile Hücre Proliferasyonunun Değerlendirilmesi	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1. Çip-Üstü-Organ Sisteminde Mikroçip Tasarımı ve Üretimi.....	29
4.1.1. Mikroçip Tasarımı.....	29
4.1.2. Kalıp Üretim	30
4.1.3. PDMS Mikroçip Üretimi	30
4.2. Organoid Oluşturulması.....	31
4.3. Mikroçipte İlaç Testleri.....	34
4.3.1. İlaç Optimizasyonu	34
4.3.2. Çip-Üstü-Organ Platformuna Organoid Ekimi	36
4.3.3. Mikroçipte İlaç Akış Testi	36
4.3.4. Dinamik Ortamın (Akış Olan Durum) Statik Ortam (Akış Olmayan Durum) ile Değerlendirilmesi	39
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47
6.1. Sonuçlar	47
6.2. Öneriler	48
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	59
EKLER.....	61

Meme Kanseri Araştırmaları İçin Bir Çip-Üstü-Organ Sistemi

Ece KOCAMAZ

Danışman: Prof. Dr. Çetin CANPOLAT

Doku Mühendisliği Anabilim Dalı

ÖZ

Meme kanseri (BC), kadınlarda en sık teşhis edilen kanserlerden biridir. Erken yaşlardan itibaren görülmeye başlanan meme kanserinin, orta yaşlarda görülme sıklığı artmaktadır. Meme kanseri tedavisinde, insan organlarının yapısal ve biyolojik karmaşıklığını taklit edebilen üç boyutlu (3B) organoidler kullanılmaktadır. Bu üç boyutlu yapılar, temsil ettikleri organlara çok benzedikleri için hastalıkların incelenmesi ve ilaç tarama testlerinde büyük kolaylık sağlamaktadır. Organoid teknolojisi kullanılarak yapılan virüs araştırmaları, ilaç testleri ve kişiselleştirilmiş tedavi çalışmaları, iki boyutlu (2B) modellerle göre daha avantajlıdır. Çip-üstü-organ (Organ-on-Chip/OoC), biyomühendislik ürünü dokuları veya doğal doku/organ parçalarını içeren ve canlı organizmaların önemli yapıları ile işlevlerini taklit edebilen mikroakışkan cihazlardır. Bu teknoloji sayesinde hücre ve dokuya özgü mikro ortamlar kontrol edilebilmekte ve fizyolojik süreçler gerçeğe yakın bir biçimde incelenebilmektedir. Bu teknoloji; mikroakışkanlar, malzeme mühendisliği ve fizyoloji gibi farklı disiplinleri bir araya getirmektedir. Bu tez çalışmasında MCF-7 hücre hattından türetilen organoidler mikroakışkan çipte kültüre edilmiş ve meme kanseri araştırmalarına yönelik tasarlanan çip-üstü-organ sisteminde farklı akış debilerinde ilaç testleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında, katı cisim tasarım programları kullanılarak mikroçip modeli tasarlanmış, üç boyutlu yazıcı ile kalıplar üretilmiş ve PDMS malzemesi ile mikroçip üretimi gerçekleştirilmiştir. Organoidler mikroçip içerisine yerleştirilerek 15 gün boyunca morfolojik olarak takip edilmiş ve sonrasında Ribociclib etken maddeli ilaç solüsyonunun organoidler üzerindeki etkisi incelenmiştir. Organoidler üzerine farklı akış debilerinde uygulanan ilaç ile hücre canlılığı ve proliferasyonu değerlendirilmiştir. Düşük akış debilerinde (1 μ L/dk), daha düşük hücre canlılığı ve proliferasyonda azalma olduğu görülmüştür. Daha yüksek akış debilerinde (5 ve 10 μ L/dk) canlılık oranlarında artış gözlemlenmiş; bu durumun, yüksek akışta ilacın organoidlere temas süresinin azalmasıyla ilişkili olduğu değerlendirilmiştir. Sonuçlar, tasarlanan çip-üstü-organ sisteminin dinamik mikroçevre koşulları altında ilaçların organoidler üzerindeki etkilerini başarıyla modelleyebildiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, Organoid Teknolojisi, Çip-Üstü-Organ, Kişiselleştirilmiş Tıp

An Organ-on-a-Chip System for Breast Cancer Research

Ece KOCAMAZ

Advisor: Prof. Dr. Çetin CANPOLAT

Department of Tissue Engineering

ABSTRACT

Breast cancer (BC) is one of the most commonly diagnosed cancers among women. Breast cancer begins to appear at an early age, and its incidence increases in middle age. Three-dimensional (3D) organoids, which can mimic the structural and biological complexity of human organs, are used in the treatment of breast cancer. These three-dimensional structures provide great convenience in the study of diseases and drug screening tests because they closely resemble the organs they represent. Virus research, drug testing, and personalized treatment studies conducted using organoid technology are more advantageous than two-dimensional (2D) modeling. Organ-on-Chip (OoC) is a microfluidic device that contains bioengineered tissues or natural tissue/organ fragments and can mimic the important structures and functions of living organisms. This technology enables the control of cell- and tissue-specific microenvironments and the examination of physiological processes in a manner close to reality. This technology brings together different disciplines such as microfluidics, materials engineering, and physiology. In this thesis study, organoids derived from the MCF-7 cell line were cultured on a microfluidic chip, and drug tests were performed at different flow rates in the organ-on-chip system designed for breast cancer research. Within the scope of the study, a microchip model was designed using solid object design softwares, molds were produced with a 3D printer, and the microchip was manufactured using PDMS material. The organoids were placed inside the microchip and morphologically monitored for 15 days, after which the effect of the Ribociclib-containing drug solution on the organoids was investigated. Cell viability and proliferation were evaluated with the drug applied at different flow rates on the organoids. At low flow rates (1 $\mu\text{L}/\text{min}$), lower cell viability and decreased proliferation were observed. At higher flow rates (5 and 10 $\mu\text{L}/\text{min}$), an increase in viability rates was observed; this was attributed to the reduced contact time of the drug with the organoids at high flow rates. The results demonstrated that the designed chip-on-organ system successfully modeled the effects of drugs on organoids under dynamic microenvironmental conditions.

Keywords: Breast Cancer, Organoid Technology, Organ-on-a-Chip, Personalized Medicine

TEŞEKKÜR

Cumhuriyetimizin kurucusu, büyük lider Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK’e, bizlere özgürce bilim üretebildiğimiz bir ülke ve gelecek bıraktığı için en derin saygı, minnet ve şükranlarımı sunarım. “Hayatta en hakiki mürşit ilimdir, fendir.” sözünün yoluma ışık olmasının gururunu yaşıyorum.

Bu tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, akademik gelişime yön veren değerli danışmanım Prof. Dr. Çetin CANPOLAT’a en içten teşekkürlerimi sunarım. Sabırlı desteği, rehberliği ve güveni bu sürecin en önemli dayanaklarından biri olmuştur.

Laboratuvar ortamını bana açan, Dr. Veli ÖZBOLAT’a, bu süreçte bana sunduğu olanaklar için içtenlikle teşekkür ederim.

Tez sürecinin birçok aşamasında birlikte çalıştığım, katkılarını ve desteğini her zaman hissettiğim Deren ASLAN, Nursena YILDIZ ve diğer tüm Özbolat LAB arkadaşlarıma teşekkür ederim. Bilimsel dayanışma kadar güzel dostluklar da kurmama vesile oldunuz.

Bilgi ve malzeme paylaşımı konusunda desteğini esirgemeyen Saygıdeğer LAB üyelerine ve birlikte çalıştığım tüm arkadaşlara içten teşekkürlerimi sunarım. Paylaşımçı tutumunuz ve yardımlarınız, süreci daha verimli ve kolay hale getirdi.

Yalnızca laboratuvar da değil, hayatımdaki zorluklarda varlıklarını hissettiren, dostluğumuzun benim için çok kıymetli olduğu arkadaşlarım İlayda Nur ÇETİN, Gülhan KARA ve Merve KEŞLUHOĞLU’na teşekkür ederim.

En yakın arkadaşım, kardeşim, desteğini her zaman yanımda hissettiğim Fatmanur BİTEN’e tüm kalbimle teşekkür ederim. Varlığıyla kilometrelerce öteden bana hep ışık oldun.

Adana’da bulunduğum süre boyunca bana her türlü destek ve imkânı sağlayan, her daim kapısını çaldığım ikinci evim olan sevgili abim Mustafa KOCAMAZ ve eşi, manevi ablam, Melisa KOCAMAZ’a tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Hayatımın her anında yanımda olduğunuzu bilmek bana güç verdi.

Hayatım boyunca koşulsuz sevgileriyle beni var eden, en zor zamanlarımda yanımda olduklarını hissettiren, her başarımda en az benim kadar gururlanan canım ailem; annem Filiz KOCAMAZ ve babam Mutlu KOCAMAZ’a sonsuz teşekkür ederim. Varlığınız, sabrınız, inancınız ve desteğiniz bu yolculukta en büyük ilhamım oldu. Sizi yanımda hissetmek, her adımda bana cesaret verdi.

Bu çalışmanın oluşmasında doğrudan ya da dolaylı emeği geçen herkese gönülden teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Organoid Karakterizasyon Yöntemleri.....	18
Çizelge 4.1. Organoid Besiyeri Bileşenleri	30



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Kanser dönüşüm süreci.....	3
Şekil 2.2.	Meme kanserinin anatomik yerleşimi ve lenfler aracılığıyla yayılımı.	4
Şekil 2.3.	Cinsiyete göre tahmini yeni kanser vakaları ve ölümlerin önde gelen nedenleri	5
Şekil 2.4.	Kanser araştırmalarında kullanılan klinik öncesi modeller	8
Şekil 2.5.	2B ve 3B hücre kültürünün karşılaştırılması.	9
Şekil 2.6.	ESCs/iPSCs ve ASCs'den organoid üretimi ve uygulamaları	10
Şekil 2.7.	Farklı çip-üstü-organ tasarımları	11
Şekil 2.8.	PDMS mikroçip üretim süreci.....	13
Şekil 2.9.	Beyin organoidleri için çip modeli	13
Şekil 2.10.	Çip-üstü-organ sistemi ve damar şeması	15
Şekil 2.11.	Organoid oluşumunda kullanılan 3B teknikler.....	17
Şekil 4.1.	Mikroçip ölçüm parametreleri	29
Şekil 4.2.	3B yazıcı ile kalıp baskısı.....	30
Şekil 4.3.	PDMS jel dökülmüş kalıplar ve Kalıptan çıkarılmış PDMS yapılar.	31
Şekil 4.4.	MCF-7 hücrelerinden oluşturulan organoidlerin 1.,3.,6.,9.,12. ve 15. gündeki morfolojik değişimlerin sırasıyla 500 µm (4x) büyütme altındaki görüntüleri	33
Şekil 4.5.	MCF-7 organoidlerinin WST-8 analizine bağlı absorbans ölçümü sonrası plaka görüntüsü	35
Şekil 4.6.	MCF-7 organoidlerine verilecek ilacın doğruluğunu saptamak için yapılan WST-8 analizinin sonuç grafiği. Sonuçlar standart sapma grafiğine göre düzenlenmiştir.	35
Şekil 4.7.	H&E boyaması yapılmış organoidlerin 500 µm (4x) ve 200 µm (10x) büyütme altındaki görüntüsü.	36
Şekil 4.8.	Şırınga pompası ile akış testi gerçekleştirilen çip-üstü-organ platformu.	37
Şekil 4.9.	DAPI boyaması sonucu boyanan nükleusun 500 µm (4x) büyütme altındaki floresan mikroskobu görüntüsü.	38
Şekil 4.10.	Ki-67 belirteci ile boyanan organoidlerin 500 µm (4x) büyütme altındaki floresan mikroskobu görüntüsü.	38
Şekil 4.11.	Pipet yöntemi ile ilaç solüsyonu verilmiş organoidlerin immüno Floresan boyama sonrası 100µm (20x) büyütme altındaki floresan mikroskop görüntüsü.	40

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

mM	: Milimolar
mL	: Mililitre
nM	: Nanomolar
μ M	: Mikromolar
μ l	: Mikrolitre
μ g	: Mikrogram
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
w/v	: Ağırlık/Hacim

Kısaltmalar

2B / 2D	: İki Boyutlu
3B / 3D	: Üç Boyutlu
ATP	: Adenozin Trifosfat
BBB	: Kan-Beyin Bariyeri
BC	: Meme Kanseri
BMoC	: Çip Üzeri Kemik İliği Modeli
Calcein-AM	: Canlı hücre boyası
CAD	: Bilgisayar Destekli Tasarım
CDK4/6	: Siklin Bağımlı Kinaz 4 ve 6
CO ₂	: Karbon dioksit
DAPI	: DNA boyası, çekirdek boyama
DMEM(-LG)	: Duplecco Düşük Glukozlu Besiyeri
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
EB	: Embriyoid Cisim
ECM	: Hücre Dışı Matris
EGF	: Epitel Büyüme Faktörü
ER	: Östrojen Reseptörü
FBS	: Fetal Sığır Serumı
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FGF (7,10)	: Fibroblast Büyüme Faktörü
FFDM	: Tam Alan Dijital Mamografi
FISH	: Yerinde Floresan Hibridizasyon

HBSS	: Hank Tuz Dengeli Çözelti
HER2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2
H&E	: Hematoksilin ve Eozin boyası
H-score	: İmmün boyamada protein yoğunluğu için hesaplama yöntemi
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
IF	: İmmünofloresan
IHC	: İmmünohistokimya
IVIS	: Canlı Görüntüleme Sistemi
L-Glutamin	: Hücre kültürlerinde kullanılan aminoasit takviyesi
MAPK	: Mitojenle Aktifleşen Protein Kinaz
MCF-7	: Meme Kanseri Hücre Hattı
MSC	: Mezenkimal Kök Hücre
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
μCT	: Mikro Bilgisayarlı Tomografi
NAC	: N-asetilsistein, antioksidan
OOB / OoC	: Organ-üzeri-Çip / Organ-çip sistemi
PARP	: DNA Hasar Onarım Enzimi
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuzlu Su
PC	: Polikarbonat
PDMS	: Polidimetilsiloksan
PEGDA	: Polietilen Glikol Diklorit
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PIK3CA	: Fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat3-kinaz katalitik alt birimi alfa
PMMA	: Polimetilmetakrilat
PR	: Progesteron Reseptörü
PS	: Polistiren
qRT-PCR	: Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ROCK	: Rho ile İlişkili Protein Kinaz
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SF ₆	: Sülfür Hekzaflorür
Thoma Lamı	: Hücre sayımı için kullanılan sayma kamerası
TNBC	: Üçlü Negatif Meme Kanseri
US	: Ultrason
UV	: Morötesi Işık
WB	: Western Blot

1. GİRİŞ

Meme kanseri (BC), kadınlarda en sık görülen kanserlerden biridir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2025 verilerine göre, meme kanseri son yıllarda akciğer kanserini geride bırakarak kadınlar arasında en sık teşhis edilen kanser türü olmuştur. Genetik ve genetik olmayan faktörler meme kanserinin görülme sıklığını etkilemektedir. Başlıca alkol, sigara, obezite gibi yüksek risk içeren yaşam tarzı faktörleri, radyasyon ve menstrüel faktörler kanseri önemli ölçüde tetikleyebilmektedir. Son yıllarda tedavi için yeni multidisipliner yaklaşımlar benimsenmiştir. Bu yaklaşımlar her ne kadar etkili bir tedavi yöntemi sunsa da hastalığın metastaz sıklığında herhangi bir değişiklik yapmamaktadır. Metastaz kanser tedavilerinde yüksek oranda belirleyici bir faktördür (World Health Organization, 2025).

Meme kanseri, genomik değişiklikler, gen ekspresyonu ve tümör mikroçevresi vb. birçok biyolojik faktör tarafından etkilenen karmaşık bir hastalıktır. Bu faktörlerin karmaşıklığı, kanserin sadece bir tedavi protokolüyle ele alınmasını zorlaştırır. Multidisipliner yaklaşım, hastanın genetik ve genetik olmayan risklerini dikkate alarak kişiselleştirilmiş bir tedavi sunmaktadır. Mikroakışkan çip sistemi ve organoid teknolojilerini bir arada kullanarak meme kanseri araştırmalarında yenilikçi yaklaşımlar hedeflenmektedir.

Organoidler, çoğunlukla indüklenmiş pluripotent kök hücrelerden (iPSC'ler) türetilen ve insan organlarının yapısal ve fizyolojik karmaşıklığını taklit edebilen üç boyutlu (3B) yapılardır (Jaemyung Shin ve ark., 2024). Bu özellikleri sayesinde, organoidler hastalık mekanizmalarının incelenmesi ve ilaç taramaları için iki boyutlu (2B) hücre kültürlerine kıyasla daha gerçekçi ve işlevsel bir ortam sunmaktadır. Nitekim organoid teknolojisi; virüs araştırmaları (Qi Shen ve ark., 2024), kişiselleştirilmiş tıp uygulamaları (Aboulkheyr Es ve ark., 2018; Josephine A. ve ark., 2024) ve ilaç testleri (Hockney ve ark., 2023; Xu ve ark., 2024; Broutier L ve ark., 2017) gibi birçok alanda önemli avantajlar sağlamaktadır.

Bu teknolojiyi tamamlayıcı nitelikte olan Çip-üstü-Organ (Organ-on-Chip, OoC) sistemleri ise, biyomalzeme veya doğal doku/organ parçalarını içeren, canlı organizmaların yapı ve işlevlerini taklit edebilen mikroakışkan temelli cihazlardır (Vargas R. ve ark., 2021). OoC sistemleri, hücre ve dokuya özgü doğal ortamı hassas şekilde kontrol ederek besin, oksijen, elektrolit, su, hormon ve ilaç gibi birçok in vitro faktörü taklit edebilmektedir (Dilmen ve ark., 2024). Ayrıca bu sistemler; hücresel düzeyden başlayarak doku ve organ düzeyine kadar uzanan kompleks biyolojik süreçlerin, hatta bu yapıların çevresel faktörlerle olan etkileşimlerinin taklit edilmesine olanak tanır. Bu doğrultuda, organoidlerin OoC platformlarında kullanımı, insan biyolojisinin daha doğru modellenmesini sağlayarak, hastalıkların moleküler mekanizmalarının aydınlatılması ve ilaç etkinlik/güvenlik testlerinin yapılmasında büyük bir potansiyel sunmaktadır. Organoid tasarımı

sırasında ise malzeme mühendisliği, doku mühendisliği ve mikroakışkanlar gibi çeşitli disiplinler bir arada çalışır (Singh ve ark., 2022).

Bu tez çalışmasında; MCF-7 hücre hattından türetilen organoidlerin besin, ilaç vb. harici etkenlere karşı davranışlarını inceleyen bir çip-üstü-organ sisteminin üretimi gerçekleştirilmiştir. Mikroakışkan çipler, kanser hücrelerinin gelişim ve ilaç etkileşimini mekanik boyutta ele almayı sağlayarak hastaya özgü kişiselleştirilmiş bir tedavinin sunulması amaçlanmıştır. İlk aşamada Çip-üstü-organ sistemini oluşturan mikroakışkan çipin kalıbı üç boyutlu katı modelleme yazılımı ile tasarlanmıştır. Sonrasında üç boyutlu yazıcı kullanılarak üretilmiştir. Optik geçirgenliğe sahip PDMS (Polydimethylsiloxane) belirli oranda kürlenmiş ve mikroçip kalıbına dökülmüştür. Uygun koşullarda bekletilerek katılaşması sağlanan PDMS, kalıptan kesilerek çıkarılmış ve bir cam lamel üzerine yerleştirilerek mikroakışkan çip üretilmiştir. Çip-üstü-organ sistemi bu mikroakışkan çip içerisine kanser organoidleri yerleştirilerek oluşturulmuş ve organoidlerin gelişim, metastaz gibi süreçler incelenmiştir. Çip-üstü-organ içinde bulunan organoidlere çip kanalları aracılığı ile kontrollü bir şekilde ilaç gönderilerek, organoidlerin ilaca verdikleri tepkiler incelenmiştir. Bu tez çalışması ile kanser hastalığında kişiye özgü tedavi yöntemlerinin sunulmasında ve çeşitlendirilmesine katkı sağlanmıştır.

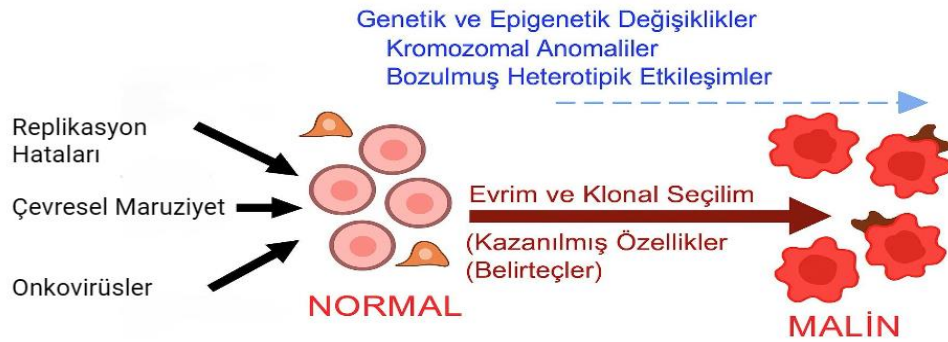
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Kanser

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), kanseri, vücudun herhangi bir doku ve/veya organında anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyüüp, diğer doku ve organları istila eden (metastaz yapan) büyük bir hastalık grubu olarak tanımlamaktadır. Kanser, dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Dünya Sağlık Örgütü 2020 verilerine göre yılında yaklaşık 10 milyon ölüme, yani her altı kişiden birinin ölümüne, neden olmaktadır. Dünya çapında en sık görülen kanser türleri meme, akciğer, kolon ve rektum ile prostat kanserleridir (World Health Organization, 2025).

Kanserin farklılaştığı ortamdaki hücreler, damarlar ve sinyaller kanserin büyümesini destekleyecek şekilde gelişim gösterir. Hücre proliferasyonu sırasında genetik çeşitlenmeler mutasyonları oluşturur. Farklı özellikteki tümör hücreleri arasında hızlı çoğalanlar veya ilaca direnç gösterenler klonal olarak seçim gösterir. Genetik mutasyonlarla şekillenen kanser hücreleri çoğunlukla passanger (yolcu) mutasyonlara uğramış olup bu mutasyonlar fonksiyona yönelik değildir ve hücrede işlevsel bir değişiklik yapmazlar. Driver (sürücü) mutasyonlar ise daha azınlıktır ve hücrelere proliferasyon, invazyon, istila, apoptozdan kaçış gibi özellikler kazandırarak tümörün ilerlemesine neden olur. (Greaves ve Maley, 2012)

Tümör oluşumundan sorumlu üç gen bulunmaktadır; onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve stabilite genleri. Onkogen ve tümör baskılayıcı gen mutasyonları, genel olarak benzer fizyolojik özellikleri gösterir. Her ikisi de hücrenin doğumu, hücrenin kontrolsüzce büyümesi veya hücre döngüsünün durmasını engeller. Stabilite genleri ise genetik değişikliklerin minimumda tutulmasını sağlar, inaktive olduğunda mutasyon oranını arttırarak tümör yayılımını sağlar. Mutasyona uğradıklarında tamamen farklı bir şekilde tümör oluşumunu teşvik ederler; mutasyon oranını arttırırlar. Bu nedenle, kanser hücrelerinin birbirinden farklı genomik profillere sahip olduğunu söylemek mümkündür (Vogelstein ve Kinzler, 2004).

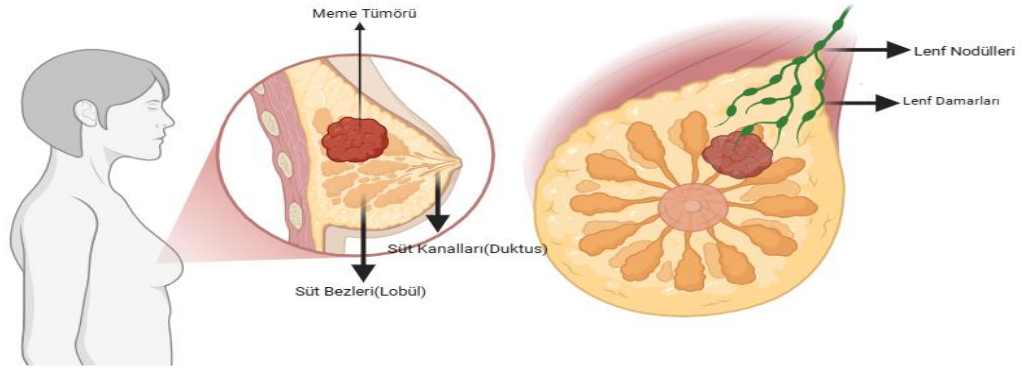


Şekil 2.1. Kanser dönüşüm süreci (Foudad ve ark., 2017).

Normal hücrelerin kanser hücresine dönüşme süreci karsinogenez ile de açıklanmaktadır. Süreç üç temel evrede incelenir; *başlatma (initiation)*, *ilerletme (promotion)* ve *ilerleme (progression)*. Başlatma evresi, onkogenlerde ve tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlarla başlar. İlerletme evresinde ise hücre popülasyonu klonal olarak genişler ve birçok hücre oluşur. İlerleme evresinde, klonal genişleme sırasında ek mutasyonlara uğrayan hücreler daha fazla büyüme ve hayatta kalma avantajı sağlar ve yayılır (Vogelstein ve Kinzler, 2004).

2.2. Meme Kanseri

Meme kanseri dünya çapında akciğer kanserinden sonra yüksek ölüm oranıyla kadınlar arasında en sık görülen kanser türleri arasındadır. Mortalitenin yüksek olmasının sebebi, meme kanserinin lenf düğümleri veya kan damarları aracılığıyla diğer organlara metastaz yapmasıdır. Meme kanseri için yaygın metastaz bölgeleri arasında aksiller lenf düğümleri, akciğerler, karaciğer, kemikler, yumuşak dokular ve beyin yer alır (Price, Janet E ve ark.,1990).



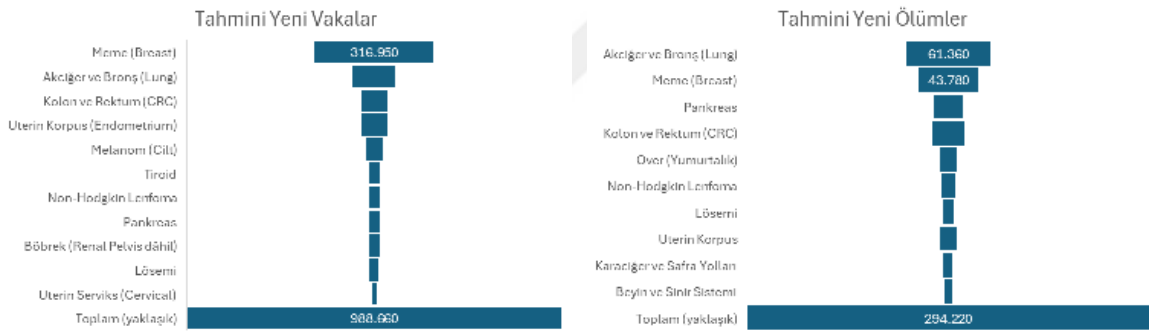
Şekil 2.2. Meme kanserinin anatomik yerleşimi ve lenfler aracılığıyla yayılımı. Bu görsel BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.

Meme kanserinin oluşumunda genetik, yaşam öyküsü, hormonal, çevresel ya da biyokimyasal birçok faktör etkilidir. Meme kanseri hastalarının çoğunda (%70) bilinen bir risk faktörünün bulunmadığı belirtilmektedir (Akyolcu N ve ark.,2018). Meme kanseri riski yaşla birlikte artar ve obezite, alkolün zararlı kullanımı, radyasyona maruz kalma, üreme öyküsü, tütün kullanımı ve menopoz sonrası hormon tedavisi gibi çeşitli faktörlerle de yükselir. Meme kanseri vakalarının yaklaşık yarısı bu risk faktörlerinin çoğunlukla görülmediği, aile meme kanseri öyküsü bulunmayan hastalarda rastlanmaktadır. Kanser önlemenin kesin olan bir yolu bulunmamaktadır. Kişi yaşam kalitesini artırarak, düzenli muayene olarak kendini risk grubundan çıkarabilir (World Health Organization, 2024).

2.2.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Kuzey Amerika Merkez Kanser Kayıtları Derneği'nin (NAACCR), Gözetim, Epidemiyoloji ve Sonuçlar Programı (SEER) ve Ulusal Kanser Kayıtları Programı (NPCR) kayıtları, 2025 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde cinsiyete ve kanser türüne göre tahmini olarak toplamda, her gün yaklaşık 5600 vakaya eşdeğer olan yaklaşık 2.041.910 yeni kanser tanısı konulacağını tahmin edilmektedir (CA A Cancer J Clinicians,2025).

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, kadın cinsiyeti meme kanseri için en güçlü risk faktörüdür; vakaların yaklaşık %99'u kadınlarda, yalnızca %0,5-1'i erkeklerde görülmektedir. 2020 yılı itibariyle, dünya çapında 2.3 milyon yeni meme kanseri vakası tespit edilmiştir ve bu rakam, global kanser yükünün %11'ini oluşturmuştur. Kanser türleri arasında mortalitesi yüksek beşinci kanser türü olmuştur (World Health Organization, 2024). Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'da her on kadından biri meme kanserinden etkilenmektedir (CA A Cancer J Clinicians,2025). Meme kanseri vakalarındaki artış, araştırmacıları tanı ve tedaviye yönelik yeni yöntemler geliştirmeye yönlendirmiştir. Kanser hücrelerinin genomik yapılarının hastadan hastaya farklılık göstermesi, kişiye özel tedavi yaklaşımlarının iyileşme oranlarını artırabileceğini ve bu nedenle yenilikçi yaklaşımların bir gereklilik olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 2.3. Cinsiyete göre tahmini yeni kanser vakaları ve ölümlerin önde gelen nedenleri, Amerika Birleşik Devletleri, 2025 (CA A Cancer J Clinicians,2025).

2.2.2. Meme Kanseri Tanı Yöntemleri

Meme kanserinde başlıca tanı yöntemleri; Mamografi(MG), Ultrasonografi(US), Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) ve Biyopsidir. Elle muayenede bir kitle fark edilirse, bu durumda ilk yapılması gereken işlem genellikle tanısal mamografidir. Mamografi el ile kitle tespiti sonrası görüntüleme için veya kitle tespit henüz tespit edilmemişken kullanılabilir. Meme dokusuna farklı derecelerde X-ışını göndererek; dokuların farklı tonlarda görünmesini ve yoğun mineral birikimlerinin, neoplastik bir lezyon içerisindeki kalsifikasyonlar gibi, saptanmasına yardımcı olur. Tanısal mamogram sayesinde cilt yüzeyi, meme ucu, ana meme kanalları, fibroglandüler doku, damarlar, yağ dokusu, kaslar ve lenf düğümleri görüntülenebilir. Mamografi tıbbi ve maddi yetersizliklerden dolayı tercih edilen ilk yol olsa da bazı dezavantajları mevcuttur. Üst üste binen

dokular kitlenin görünmesini engelleyebilir. Tedavi için yanıtıcı bir sonuç olmaması adına en az iki standart görüntüleme yapılır (Reeves RA, ve ark., 2025).

Ultrason görüntüleme, kanser tanısında kullanılan diğer öncelikli testtir. İnsan kulağının algılayamayacağı frekansta, yani 20.000 Hz'in üzerindeki ses dalgalarını kullanır. Bu yöntemde, meme dokularına yüksek frekanslı ses dalgaları gönderilir ve farklı yoğunluktaki dokulardan yansıyan dalgalar analiz edilerek görüntü oluşturulur. Yan yana bulunan farklı yoğunluktaki dokular arasında akustik direnç uyumsuzluğu meydana gelir. Bu uyumsuzluk, ses dalgalarının bir kısmının yansımaya neden olur. Akustik empedans farkı ne kadar büyükse, yansıyan ses dalgalarının şiddeti de o kadar fazla olur ve bu dalgalar dönüştürücü (transdüser) tarafından algılanarak görüntüye dönüştürülür (Seidel ve ark., 2000).

Kontrast madde kullanılarak gerçekleştirilen ve özel 8 kanallı faz diziliimli *MRI tekniği* ile elde edilen görüntüler, çok düzlemlili kesit alma özelliği sayesinde memenin üç boyutlu olarak değerlendirilmesini sağlar. Mamografi ve ultrasonografiye (USG) göre daha yüksek hassasiyet sağlar. Özellikle yoğun meme dokusu ya da anatomik bozulmaların bulunduğu olgularda, MRI tanısal doğruluk açısından mamografi ve USG'ye göre daha avantajlıdır (Menezes GLG ve ark., 2014).

Meme biyopsisi, mikroskop altında incelenmek üzere küçük bir meme dokusu örneğinin alınması işlemidir. Meme biyopsisi genellikle meme muayenesi veya mamografi veya ultrason gibi görüntüleme testleri sırasında bir kitle veya anormallik tespit edildiğinde yapılır. Tedaviye yanıt verilip verilmediğini veya kanserin vücudun diğer bölgelerine yayılıp yayılmadığını belirlemek için takip biyopsileri yapılabilir. Ayrıca, meme biyopsisi tedavinin etkinliğini izlemek için de gereklidir (Nounou MI ve ark., 2015).

2.2.3. Meme Kanseri Alt Tipleri

Duktal karsinoma in situ (DCIS), meme kanserinin en erken evre formudur. Teşhis edilen vakaların yaklaşık %20'sini oluşturur. DCIS formunda süt kanallarında bulunan hücreler kanserleşir ancak çevre dokulara metastaz yapmaz. Erken teşhis edildiğinde tedavi şansı yüksektir ve genellikle cerrahi müdahale ile iyileşebilir (Bonev, V. V., 2023). Meme kanserinde invaziv duktal karsinom (IDC), en yaygın invaziv kanser türüdür. İnvaziv meme kanserlerinin %70-80'ini oluşturur. Süt kanallarının dışına çıkarak farklı dokulara metastaz yapabilir, cerrahi müdahale ve kemoterapi gerekmektedir (Zhao H, 2021). Meme kanseri, immünohistokimyasal teknikler kullanılarak dört moleküler alt tipe ayrılır: Luminal A, Luminal B, HER2 pozitif ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC). Sınıflandırmada kullanılan temel moleküler belirteçler ise ER, PR ve HER2'dir (Carvalho ve ark., 2025).

Luminal A tipi, tüm meme kanserlerinin yaklaşık %50'sini oluşturur. Östrojen Reseptörü (ER) pozitifdir (≥ 1) ve Progesteron Reseptörü (PR) (≥ 20) pozitifdir. HER2 negatiftir. Ayrıca Ki-

67 (<%20) ekspresyonu gösterir. Ki-67'nin düşük ekspresyonu tümör proliferasyonunun daha az olmasına sebebiyet verir (Orrantia-Borunda ve ark., 2022). Luminal A tipi meme kanserleri, daha az agresif ve yavaş büyüyen tümörler olup, tedaviye en iyi yanıt veren alt tiptir. İnsidansı düşüktür ve sağ kalım oranı diğer moleküler tiplere kıyasla daha yüksektir. Hormon tedavisine duyarlıdır ve çoğu durumda kemoterapiye ihtiyaç duyulmaz. (Carvalho ve ark., 2025)

Luminal B meme kanseri, östrojen reseptörü (ER) pozitif ($\geq 1\%$) olan bir alt tiptir. Progesteron reseptörü (PR) negatiftir. Luminal B, HER2 negatif ($\leq 10\%$) veya HER2 pozitif ($> 10\%$) olabilir. Yüksek Ki-67 değerine sahiptir. Luminal A tipine göre daha hızlı tümör proliferasyonu gösterir ve tedaviye daha az yanıt verir. ER pozitif olduğu için hormon tedavisine duyarlıdır ancak kemoterapi ile desteklenmesi gerekmektedir (Slamon ve ark., 2009).

HER2-pozitif meme kanseri, insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) proteininin durumuna göre sınıflandırılan bir meme kanseri alt tipidir. HER2-pozitif meme kanseri, HER2 proteininin aşırı ekspresyonu ile karakterize edilir. Tüm meme kanserlerinin yaklaşık %15-20'sini oluşturur. Bu alt tip, kendi içinde heterojen olup farklı moleküler alt tiplere ayrılabilir (Li ve ark., 2024).

TNBC ise tek bir hastalık olmayıp, farklı alt tiplere sahip heterojen bir yapıdır. Tüm meme kanserlerinin yaklaşık %15'ini oluşturur. ER, PR ve HER2 negatiftir ve yüksek proliferasyon (Ki-67 > %30) gösterirler. TNBC, agresif tümörlerdir ve diğer alt tiplere göre tedaviye çok daha az yanıt verir. En etkili tedavi yöntemi kemoterapidir (Sarno ve ark., 2023).

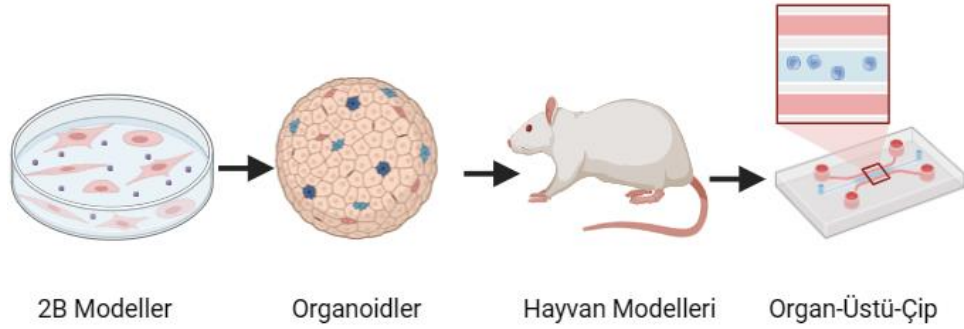
Meme kanserinin moleküler olarak sınıflandırılması, tümörün genetik profiline göre biyolojik özelliklerinin belirlenmesini ve buna uygun tedavi yaklaşımlarının uygulanmasını mümkün kılar. Farklı alt tipler farklı tedavi yaklaşımları gerektirebildiğinden, bu sınıflandırma kişiye özgü tedavi sürecinin planlanmasına ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının gelişmesine olanak tanır (Akyolcu ve ark., 2018)

Bu tez çalışmasında kullanılacak meme kanseri hücre hattı MCF-7'dir. Meme kanseri araştırmalarında yaygın olarak kullanılan bu hücreler ER pozitif ve progesteron reseptörü (PR) pozitifdir. Lüminal A moleküler alt tipine aittir. Kullanılan hücre hattının moleküler tipi, tedavi yönteminin planlanması için kritik öneme sahiptir. MCF-7 hücre hattının moleküler alt tipi göz önünde bulundurularak, bu hücreler üzerinde başlıca hormon tedavileri, hedefe yönelik tedaviler ve kemoterapi ajanları kullanılarak yapılan tedaviler uygulanmaktadır.

2.3. Kanser Modellemesi

Kanser modellemesi, kanser araştırmalarında ve özellikle kişiselleştirilmiş tedavilerde kullanılan ve sürekli gelişen bir yaklaşımdır. Tümör mekanizmalarını taklit ederek patolojik süreçleri daha iyi anlamamıza yardımcı olur. Kanser modellemesi, iki boyutlu (2B) hücre kültürlerinden organoid ve sferoid gibi üç boyutlu (3B) yapılara kadar pek çok modelin kullanıldığı

gelişmekte olan bir alandır. Bu yapılar, organın gerçek fizyolojisine daha yakın bir ortam sunarak, organ düzeyinde daha doğru bir modelleme sunar (Srivastava ve ark., 2024).



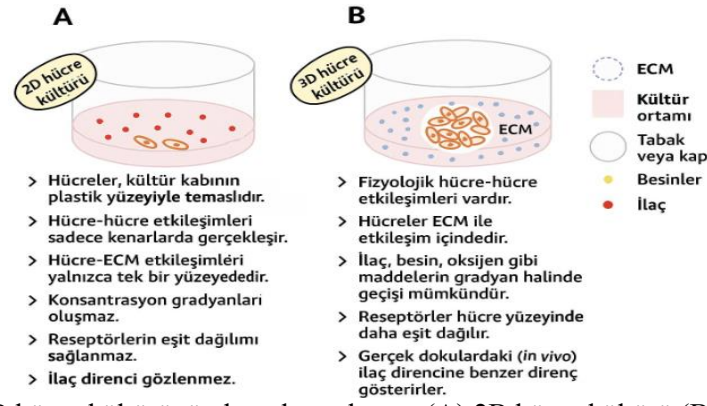
Şekil 2.4. Kanser araştırmalarında kullanılan klinik öncesi modeller (Srivastava ve ark., 2024). Bu görsel BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.

Geleneksel 2D hücre kültürlerine kıyasla, organoid teknolojisi in vitro modellemede daha fazla biyolojik gerçekçilik sunar. Bu, normal ve patolojik süreçlerin daha iyi anlaşılmasına ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanır. Modelleme süreci, organoidlerin yapısal ve fonksiyonel özellikleri göz önünde bulundurularak daha doğru ve etkili sonuçlar elde edilmesini sağlar.

2.3.1. İki Boyutlu-Üç Boyutlu (2B-3B) Modelleme

2B hücre kültürü, 1900'lerden bu yana bilim insanlarının insan fizyolojisini, kültür kök hücrelerini, hastalıkları incelemeyi, hücre-hücre etkileşimini, doku görüntülemeyi, ilaç keşfini ve ilaç metabolizmasını anlamalarında temel dayanak noktası olmuştur (Singh ve ark., 2022). 2B hücre kültürleri zamanla çok sık tekrarlanması sonucu standart haline gelmiştir ve görüntüleme yöntemleri gelişmiştir. Kültür modelinin uygulanması protokolün gelenekselleşmiş olması ve düşük maliyetli olması sebebiyle tercih edilmiştir. 2B kültüründe; hücreleri x-y düzleminde görüntülemek 3B görüntüleme yapmaktan daha kolay olsa da düşük biyouyumluluğu nedeniyle yanıtı birebir temsil edemez (Samimi ve ark., 2021). Hücre kültürleri organın gerçek fizyolojisini yansıtmaz ve ilaçların etkinliğini veya hücrelere nüfuzunu tam olarak değerlendirmek için yetersizdir. Bu nedenle, 3 boyutlu kültürden türetilen organoidler, daha gerçekçi bir model sunar (Srivastava ve ark., 2024).

Yapılan bir çalışmada, MEK ve Aurora kinaz yollarını eş zamanlı olarak hedefleyen çift inhibitör BI-847325'in ATC hücrelerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla 2B ve aljinat bazlı 3B kültür modelleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar; Aljinat bazlı 3B in-vitro modelinin, ilaçların daha etkili bir şekilde test edilmesine ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde daha etkili olduğunu göstermiştir. Bunun sebebi, 3B in vitro modellerinin antikanser ilaçlara karşı daha yüksek direnç göstermesidir (Samimi ve ark., 2021).



Şekil 2.5. 2B ve 3B hücre kültürünün karşılaştırılması. (A) 2B hücre kültürü (B) 3B hücre kültürü (Samimi ve ark., 2021)

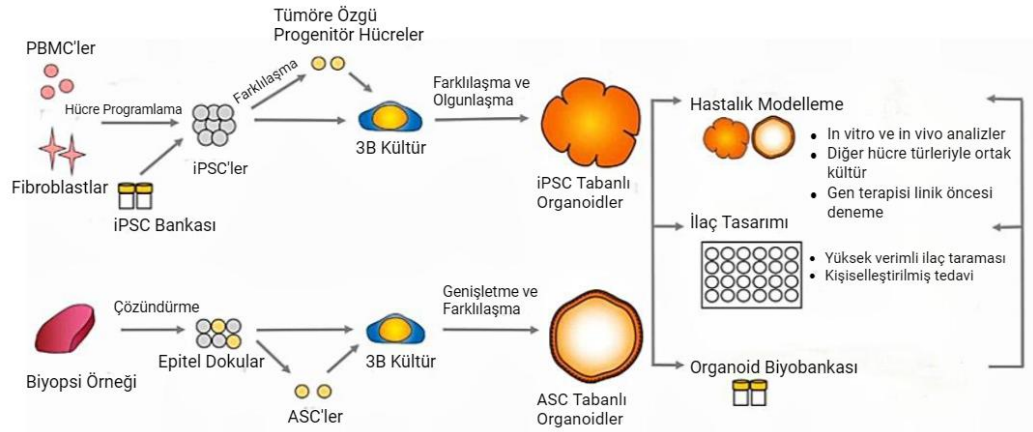
2B hücre kültüründe hücre-hücre etkileşimi sınırlıdır ve hücre-ECM (ekstrasellüler matriks) etkileşimi sadece bir yüzeydedir. İlaç direnci yoktur ve reseptörler eşit dağılım göstermezler. 3B kültürde hücre-ECM ile etkileşim halindedir ve ilaç, besin, O₂ gibi maddeler hücreye nüfuz eder. İlaç direnci in vivo benzeridir (Samimi ve ark., 2021).

Yapılan çalışmalar, araştırmacılara belirli ilaçların veya kimyasal maddelerin etkilerini değerlendirirken 3B hücre kültürü sistemlerini kullanmasının avantajına önemli bir vurgu olmuştur. 3B kültürler, hücrelerin birbirleriyle ve çevreleriyle daha doğal etkileşimler içinde olduğu modellerdir (Dornhof ve ark., 2022).

2.3.2. Organoidler

Organoidler, hücrelerin bir araya gelerek oluşturduğu organ benzeri 3B yapılarıdır. Bu üç boyutlu yapı organın gerçek fizyolojisine daha yakın bir ortam sağlar. Geleneksel hücre kültürü tekniği olan tek tabakalı 2B hücre kültürlerine kıyasla organoid teknolojisi, daha gerçekçi bir in vitro model sunar ve kişiselleştirilmiş tedavinin gelişmesine katkıda bulunur. Hücreler uygun büyüme faktörleri ve matriks ortamı kullanılarak belirli bir doku veya böbrek, akciğer, beyin gibi organların yapı ve işlevini taklit eder (Clevers, 2016).

Organoidler, indüklenmiş pluripotent kök hücrelerden (iPSC'ler) veya yetişkin kök hücrelerden (aSC'ler) üretilebilir. iPSC'den türetilen organoidler, genellikle hastalardan alınan deri biyopsilerinden elde edilen fibroblastların, belirli transkripsiyon faktörleri aracılığıyla yeniden programlanması yoluyla elde edilir. Hücreler, istenen organoid türüne uygun büyüme faktörleri ve sinyal yolları kullanılarak farklılaştırılır. Daha sonra hücreler, Matrigel gibi bir ECM'ye (ekstrasellüler matriks) gömülerek, üç boyutlu kültürde kendi kendine organize olmaları sağlanır (Fatehullah ve ark., 2016). Matrigel, fare sarkomu kaynaklı bir bazal membran matrisidir ve hücrelerin polarite kazanmasını, morfolojik olarak organize olmasını ve 3B yapısını destekler (Clevers, 2016). aSC'den türetilen organoidler ise, genellikle hastalardan veya model organizmalardan alınan birincil dokuların tek hücre düzeyine ayrıştırılması yoluyla üretilir.



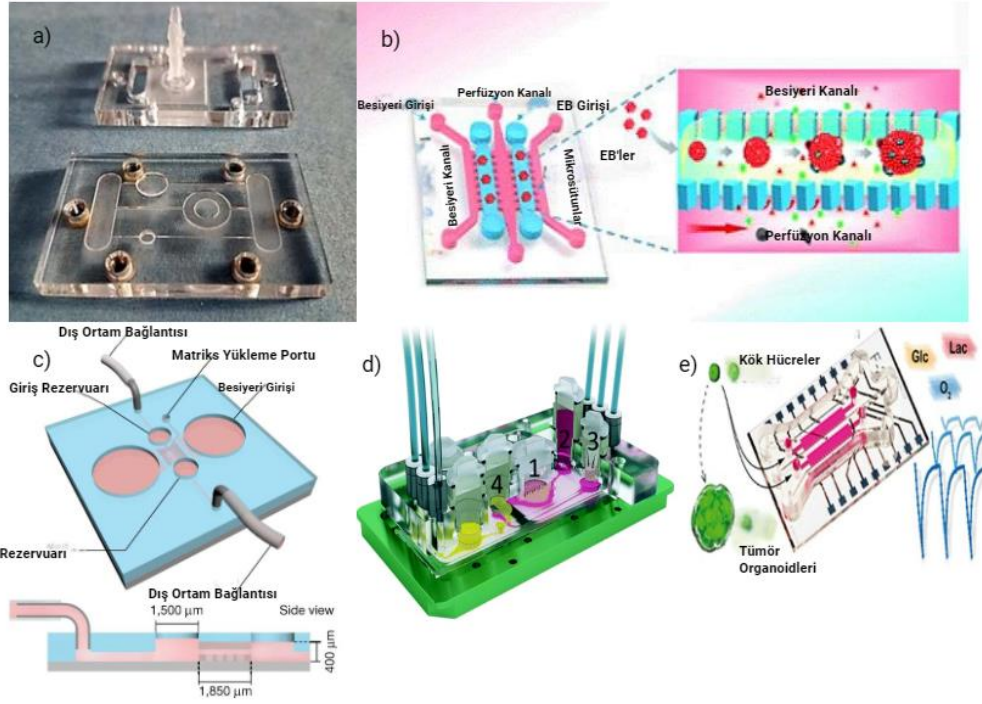
Şekil 2.6. ESCs/iPSCs ve ASCs'den organoid üretimi ve uygulamaları. iPSCs periferik kan mononükleer hücrelerinden (PBMCs) veya fibroblastlardan oluşturulabilir. ASC tabanlı organoidler ise hastalardan alınan biyopsi örneklerinden farklılaştırılır. Her iki organoid de 3B kültür ortamında büyür. Hastalık modellemesi ve ilaç taraması çalışmalarında ve kaynak olarak organoid biyobankası için kullanılırlar (Watanabe ve ark., 2017).

Ayrıştırılan hücreler, Matrigel ve benzeri 3B jellere gömülerek kültürlenir. Hücreler, farklılaşması istenen organoid türüne göre, mikroçevre faktörleri ile zenginleştirilmiş serumsuz kültür ortamında büyütülür. Bu ortam, kök hücrelerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını sağlar (Clevers, 2016). Farklı organoid türleri için kullanılan niş faktörleri, hücre köken ve farklılaşma yönüne bağlı olarak değişiklik gösterir. Örneğin, MCF-7 meme kanseri hücre hattından organoid üretirken, meme dokusunun mikroçevresini taklit etmek öncelikli hedeftir. Bu amaçla, büyüme faktörleri de buna uygun olarak seçilir. MCF-7 hücre hattından organoid üretiminde, DMEM/F12 medium, BSA ve Glutamin kullanılır; bunların yanı sıra, hücrelerin büyümesi ve farklılaşması için FGF, EGF ve B27 gibi büyüme faktörleri de eklenebilir (Boo ve ark., 2016).

2.4. Çip-Üstü-Organ Sistemleri

Mikroakışkan çipler 3B hücre kültürü teknolojisiyle birleşerek organların karmaşık ve özgül yapısını, özelliklerini etkin bir şekilde taklit eder (Esch ve ark., 2015). Mikroakışkan çip olan çip-üstü-organ sistemleri organoidlerin daha kontrollü mikroçevrelerde kültürlenmesini, düşük maliyetli yüksek verimli testlerle sağlamaktadır. Tekrarlanabilir olması testlerin doğruluk payını arttırmaktadır (Park ve ark., 2019). Mikroakışkan çipler genellikle fotolitografi yöntemi ile üretilmektedir. Gelişen teknolojiyle birlikte günümüzde üç boyutlu yazıcılar ve diğer mikro üretim araçları kullanılarak da üretimler yapılmaktadır. Böylelikle, mikro ölçekte yüzey ve boyut hassasiyeti sayesinde canlı hücreler kendi doğal doku ortamlarında gibi algılamakta ve bu şekilde yanıtlar vermektedirler (Novak ve ark., 2018). Bu sistemler, dokulardaki fizyolojik özellikleri yeniden yapılandırmak için hassas mikroakışkan tasarımlardan yararlanmaktadırlar. Böylelikle, fizyolojik sıvı akışını, kayma gerilmesini, besin iletimini ve ilaç etkisini taklit eden kontrol edilebilir bir ortam oluşmaktadır. Bu tip mikroakışkan cihazlar hücre kültürü, mikroçevre

oluşturma ve organ simülasyonu için çok yönlü bir platform sağlayarak organ dokusunun in vitro değerlendirilmesine olanak tanımaktadır.



Şekil 2.7. Farklı çip-üstü-organ tasarımları. (a) Mikroakışkan cihaz; nefes alabilen bir akciğer bölmesine, bir karaciğer bölmesine ve bir 3 odacıklı mikroakışkan cihaza sahiptir (Miller ve ark., 2020) (b) Embriyonik cisimlerden (EB'ler) beyin organoidleri farklılaştırmak için kullanılan cihazı (Wang ve ark., 2018). (c) Çip üzerinde bağırsak organoidleri görüntüsü (Nikolaev ve ark., 2020). (d) Sırasıyla; bağırsak (i), karaciğer (ii), deri (iii) ve böbrek (iv) dokusu için dört doku kültürünü tek bir mikroakışkan çipte bulunduran cihaz bölmesini temsil eder (Maschmeyer ve ark., 2015). (e) Oksijenin gerçek zamanlı ölçümü için hastadan türetilmiş üçlü negatif meme kanseri kök hücrelerinin (BCSC1), mikroçip platformu (Dornhof ve ark., 2022).

Çip-üstü-organ teknolojisinin üretimine ilişkin bir çalışmada (Kefallinou ve ark.), 3B yapı iskeleleri ve biyomalzemeler içermemesine rağmen gerekli biyolojik gelişimi desteklemesi hedeflenen bir çip üstü kemik iliği (BMoC) modeli tasarlanmıştır. Modelin en üst katmanında hücreler kültürlenirken, alt katmandaki perfüzyon mikro bölmesi aracılığıyla hücrelerin ihtiyaç duyduğu besin, oksijen vb. bileşenler sürekli akışla sağlanmaktadır. Ortada yer alan PDMS gözenekli membran, bu maddelerin hücrelere iletimini mümkün kılmaktadır. Cihaz, cam slayt üzerine yerleştirilerek hücrelerin mikroskopik gözlemi sağlanmıştır.

Çalışmada, yumuşak litografi yöntemiyle katmanların üretimi gerçekleştirilmiş ve kimyasal modifikasyon amacıyla bu katmanlar alüminyum ile kaplanmıştır. Gözenekli membranın silikon kalıbının desenlendirilmesi sürecinde ise reaktif gaz olarak sülfür hekzaflorür (SF_6), pasivasyon gazı olarak ise oktaflorosiklobütan (C_4F_8) kullanılarak plazma aşındırma işlemi uygulanmıştır. Bu

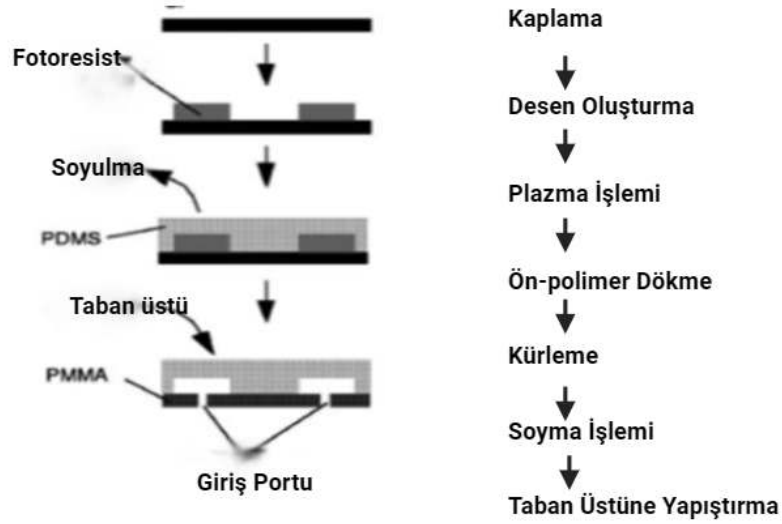
sayede PDMS katmanları arasında sağlam bir bağ oluşması sağlanmıştır. Son olarak, mezenkimal kök hücreler (MSC), Tip I kollajen ile ön işlemden geçirildikten sonra mikro haznelere yerleştirilmiştir. Mikro ortamın fizyolojik koşullara daha yakın olması ve katmanlar arası akışın verimli şekilde sağlanabilmesi amacıyla uygun şekil ve boyutlar bilgisayar destekli tasarım (CAD) programı ile belirlenmiştir.

2.4.1. Çip-Üstü-Organ Mikroakışkan Çipinin Üretimi

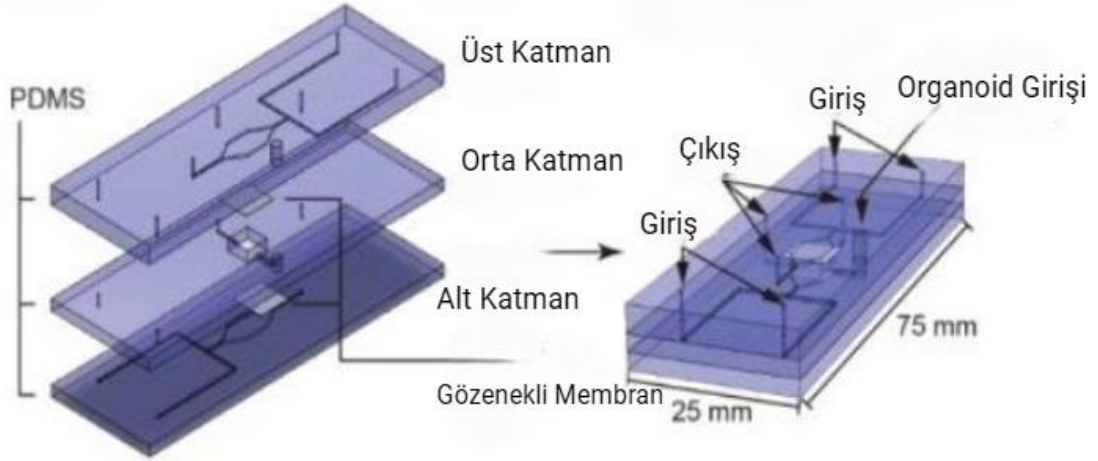
Mikroakışkan cihazlar, canlı hücrelerin bulunduğu kanal ve bölme ağlarından oluşan; hücresel mikro ortamların gerçek zamanlı olarak izlenmesine ve simülasyonuna olanak tanıyan platformlardır. Bu sistemler sayesinde hücrelerin dış uyaranlara verdikleri tepkiler gözlemlenebilir ve hücrelerin ya da organların fizyolojik ve patofizyolojik özellikleri açığa çıkarılabilir. Örneğin, hastalık modellerinde hücre yanıtlarının izlenmesi, ilaç etkilerinin araştırılması ve bağışıklık yanıtlarının değerlendirilmesi gibi uygulamalarda önemli rol oynarlar (He ve ark., 2015). Mikroakışkan çiplerde cihaz boyutlarının hücrelerle uyumlu olması da bu teknolojilerin tercih edilme sebeplerindendir.

Mikroakışkan sistemler; genellikle biyouyumluluğu kanıtlanmış polidimetilsiloksan (PDMS) (Yoon ve ark., 2024), poli(metil metakrilat) (PMMA) (Rodríguez ve ark., 2023), polikarbonat (PC) (Johannes ve ark., 2017), polistiren (PS) (Viviana ve ark., 2005), perflorlu polietilen (PFPE) (Gómez ve ark., 2012), cam (Li ve ark., 2006) ve hidrojel gibi malzemelerden üretilmektedir. Mikroakışkan çiplerin şeffaflığı, sistemlerin bir diğer avantajıdır. Bu özellik, mikro kanallara doğrudan optik erişim sağlayarak gerçek zamanlı izlemeye olanak tanır. Şeffaf yüzeyler, mikroskopik gözlemlerin doğruluğunu artırır (Wang ve ark., 2009). Cam, optik şeffaflık açısından ideal olsa da üretim zorlukları ve yüzey yapışkanlığı gibi nedenlerle her laboratuvar ortamında tercih edilmez (Li ve ark., 2006). Bu nedenle, çoğunlukla PDMS tercih edilmektedir. PDMS; düşük maliyeti, hızlı üretimi, biyouyumluluğu, yüksek mekanik dayanıklılığı, gaz geçirgenliği, optik şeffaflığı ve karmaşık yapıların kolay üretimine olanak tanınması gibi özellikleriyle biyoteknoloji ve biyomedikal mühendislikte yaygın kullanım alanı bulmuştur (Yoon ve ark., 2024).

PDMS mikrokanalları, replika döküm tekniği sayesinde kolayca üretilebilir. Bu yöntem, tek kullanımlık analiz cihazlarının üretimi için uygun ve ekonomiktir. Ana kalıp hazırlandıktan sonra, PDMS bu kalıba dökülerek mikrokanallar oluşturulur; ardından kalıptan çıkarılan mikrokanal, genellikle cam alt tabaka üzerine yapıştırılır (Yadhuraj ve ark., 2018).



Şekil 2.8. PDMS mikroçip üretim süreci (Yadhuraj ve ark., 2018).



Şekil 2.9. Beyin organoidleri için çip modeli (Tsai ve ark., 2025).

Tsai ve ark. (2025) yaptığı bir çalışmada, beyin organoidlerinin oluşturulması için tasarlanmış bir mikroakışkan cihazda, hidrojeller içine gömülü tek bir odada dört farklı büyüme faktörünün uygulanmasına olanak tanınmıştır. Bu cihaz, bir cam slayt üzerine yerleştirilmiş üç mikroakışkan katman ve iki gözenekli membrandan oluşmaktadır. Sistem; biyobenzerliği, gaz geçirgenliği ve şeffaflığı nedeniyle yaygın olarak tercih edilen PDMS malzemesinden üretilmiştir (Tsai ve ark., 2025).

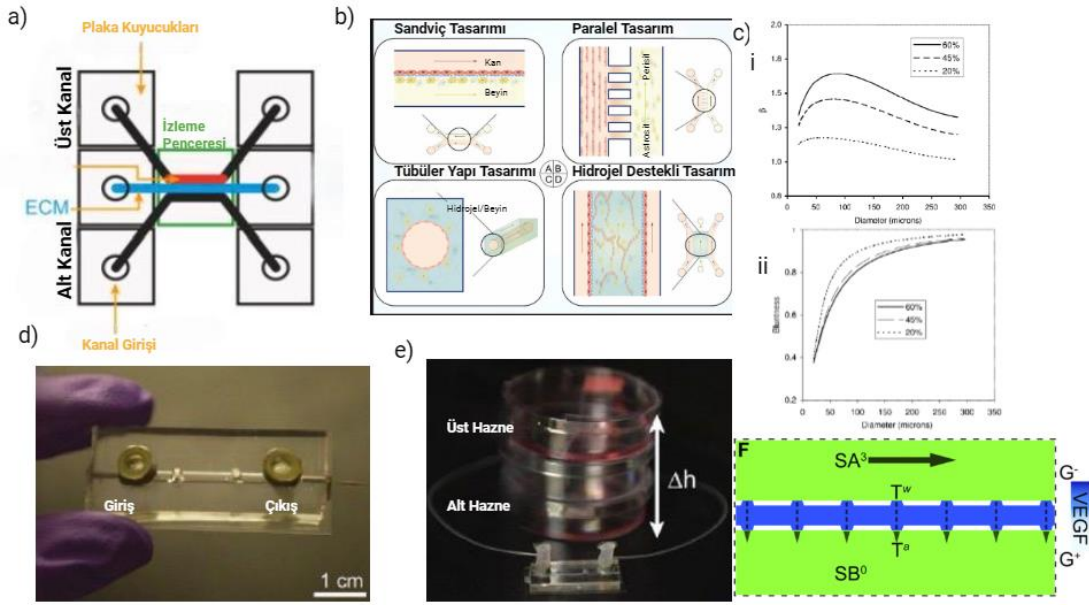
2.2.1. Çip-Üstü-Organ Sistemlerinde Perfüzyon Akış

Çip-üstü-organ platformları; hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri gibi mikro ortam etkileşimlerini, küçük kültür hacimlerinde incelememize olanak tanır. Organoidler mikroçipe entegre haldeyken, hücrenin doğal mikro ortam koşulunun taklit edilmesi; bütün hücrelerin

homojen bir şekilde besin ve O₂ alması, mikroakışkan kanallardaki perfüzyon akış kontrolüyle sağlanır. Özellikle mikroakışkan perfüzyon kültürü, çözünabilir biyokimyasal moleküllerin kontrollü bir şekilde verilmesine ve uzaklaştırılmasına izin verir (Kato K., 2023). Sıvı yüzeyle etkileşime geçtiğinde bir kayma gerilmesi oluşur. Kayma gerilmesi, hücrenin gen ekspresyonunu ve morfolojisini etkiler. Bu nedenle, mikroakışkan sistemlerde perfüzyon akışının, bunu gözeterek tasarlanması ve optimize edilmesi; Oc teknolojisinin gelişmesinde önemli bir rol oynar (Bi ve ark., 2023).

Çip-üstü-organ sisteminin üretiminde dikkat edilmesi gereken belirli parametreler vardır. Organoid doku kültür ortamı, hücrelerin besin ve oksijen ihtiyacını gerçek damar ağlarına benzeyen mikrokanallar aracılığı ile sağlamalı ve canlılığın in-vivo şartlarını başarılı bir şekilde taklit etmelidir. Mikrokanallara dışarıdan besin ve oksijen, belirli bir yönde ve sürekli bir akışla iletilmelidir. Bu sayede kültür ortamında uzun süre canlı doku görüntülenebilir (Sonntag ve ark., 2010). Çip-üstü-organ sisteminin tasarımında, hücre kültürü kanalları gereklidir ve farklı tasarımlarla bu kanallarda akış sağlanarak hücrelerin doğal mikro ortamı kontrol edilebilmelidir. Geçmişten bu yana hücrelerin iç ortamını taklit edecek farklı tasarım yöntemleri denenmiştir (Kato K., 2024). Modelleme yöntemlerinin uygulanmasında perfüzyon akışı, hücrelere zarar veren kayma gerilmesine neden olur. Bu gerilme, hücre proliferasyonunda değişimlere sebep olurken; kayma gerilmesinin artması, hücrelerin çoğalmak için gereken ortamı bulmalarını zorlaştırabilir veya hücrelerin kendilerini çevreleyen dokuyla etkileşimini değiştirebilir (Bernabeu ve ark., 2021).

Kayma gerilmesi, bir düzlem boyunca yüzeye teğet olarak etkiyen gerilme ile malzemelerin ve hücrelerin deformasyonuna neden olur. Mikroakışkan çiplerde perfüzyon akışı sırasında kayma gerilmesi oluşur. Oluşan bu kayma gerilmesi, mikroakışkan çiplerde hücre göçünü, proliferasyonunu ve hücre tutunmasını etkileyebilir (Bi ve ark., 2023). Mikroakışkan çiplerde kayma gerilmesinin optimize edilmesi, hücrelerin proliferasyonunu ve fonksiyonlarını doğru şekilde taklit etmek için gereklidir.



Şekil 2.10. Çip-üstü-organ sistemi ve damar şeması. (a) Üst kanalında bir mikrodamar (kırmızı) içeren üç şeritli çip-üstü-organ tasarımı. Mikrodamar ECM jel kanalıyla (açık mavi) temas halinde genişler (Fengler ve ark., 2022) (b) Çip üzerinde mikroakışkan çip tasarımı. (i) Çip üzerinde mikroakışkan sandviç tasarımında, üst ve alt kanal, üzerine karşılık gelen hücrelerin bulunduğu bir membranla ayrılır. (ii) Çip üzerinde mikroakışkan çip paralel tasarımı, paralel kanalların çipin altındaki mikrokanallar aracılığıyla bağlanmasıyla oluşturulur. (iii) 3B boru şeklindeki yapı tasarımı, hidrojellerin PDMS'den oluşan bir kültür odasına enjekte edilmesini ve bir vasküler kanal oluşturmak için içine silindirik nesneler yerleştirilmesini içerir. (iv) Bu tasarım, hidrojel ile aşılansmış bir beyin kanalının iki vasküler kanalı ayırarak doğal BM oluşumunu kolaylaştırdığı paralel bir tasarımdan geliştirilmiştir (Wangyu ve ark., 2023) (c) Akış parametresi (i) Hücresiz tabakanın (β) bağıl viskozitesinin, çap (D , mikron cinsinden) ve çıkış hematokriti (HD) ile değişimi. (ii) Tıkanıklık parametresi (B)'nin, çap (D , mikron cinsinden) ve çıkış hematokriti (HD) ile değişimi. (Sharan ve Popel, 2001) (d) PDMS tabanlı mikroakışkan çip. (e) Giriş ve çıkış bağlantı noktalarını üst ve alt ortam rezervuarına bağlayan borulardan oluşan perfüzyon sistemi (Linville ve ark., 2019) (f) İnsan endotel hücre (HUVEC) kanalının (yeşil) kolajen bariyeri (mavi) aracılığıyla bağlanmasına izin verir. Her HUVEC kanalının bağımsız giriş ve çıkış portları vardır; bu, hem kanallarda (SA ve SB) hem de kollajen matrisinde (T) akış üzerinde sıkı kontrol sağlar (Song ve Munn, 2011).

Çip-üstü-organ sistemleri, geleneksel kültür sistemleri veya hayvan modellerine kıyasla benzeri görülmemiş bir teknoloji olarak kabul edilebilir. Gerçek organ fonksiyonlarını yaratabilmek için gereken dinamik akış; mekanik uyarıların yanı sıra, hücresel davranışa dair in vivo benzeri bir mikro ortam sağlar. Çip-üstü-organ sistemleri, dinamik kan akışını taklit ederek ve canlı organlarda farklı dokuların birbirleriyle nasıl fiziksel olarak etkileşimde bulunduğunu inceleyerek; yeni ilaç adaylarını test etmek ve insan patofizyolojisini anlamak için diğer in vitro yöntemlere göre daha sistematik bir yaklaşım sunar (Yoon ve ark., 2024).

2.5. Organoidlerin Çip-Üstü-Organ Sistemlerinde Kullanımı

Organoidlerin mikroakışkan sistemlerde kullanılması hücre ve dokuya özgü mikro ortamı kontrol etmeye ve gerçekleşen fizyolojik süreçleri gerçeğe yakın bir formda incelemeye olanak sağlar. Bu uygulamalar, besin, oksijen, elektrolit, su, hormonal aktivite ve ilaç gibi birçok in-vitro fonksiyonu taklit edebilir (Dilmen ve ark., 2024). Organoidlerin mikroakışkan sistemlerde kullanımı malzeme mühendisliği, doku mühendisliği ve mikroakışkanlar gibi farklı disiplinleri birleştirmektedir (Singh ve ark., 2022). Hücre ve doku tepkisinin gerçek zamanlı izlenmesinin bir avantajı olarak insan biyolojisinin anlaşılması, hastalıkların mekanizmalarının araştırılması, ilacın hastalığın tedavisinde ne kadar etkili olduğunu veya ilacın güvenliğini değerlendirmek için de kullanılabilir (DiMasi ve ark., 2010).

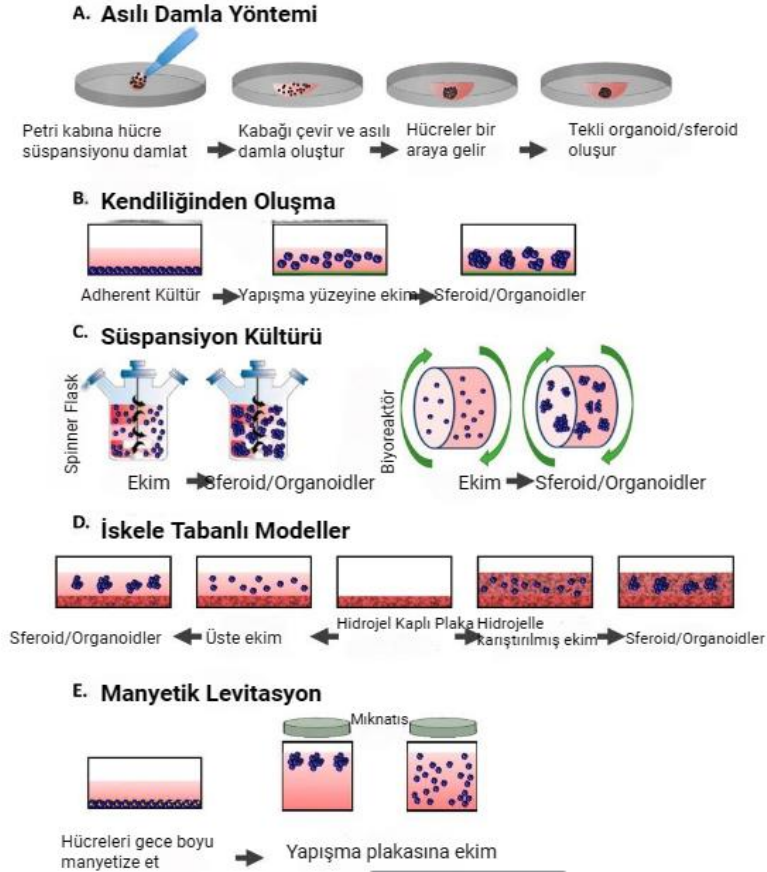
Çip-üstü-organ teknolojinin ilaç geliştirme sürecine dahil edilmesi, klinik öncesi aşamalardaki maliyet ve süre problemini önemli ölçüde azaltabilir. Geleneksel yöntemlerin aksine, 3 boyutlu organoidler gen ve protein ifadesi, metabolik fonksiyonlar ve mikro-doku mimarisi açısından gerçek organa daha benzerdir (Vargas ve ark., 2021). Bu nedenle, köklü çiplerde organ sistemlerine benzer şekilde organoidler, kişiselleştirilmiş tıp ve yeni nesil ilaç taramasını ilerletmek ve hayvan deneylerine olan ihtiyacı azaltmak için umut verici bir araç sağlar. Çip-üstü-organ teknolojisi geçmişten günümüze yapılan çalışmalarla desteklenmiş ve geliştirilmektedir. Geleneksel hücre kültürleri hızlı ve güvenilir ilaç yanıtını kolaylaştırır, fakat canlı organların fizyolojisini ve patolojisini tam olarak kopyalama yetenekleri sınırlıdır. Hayvan modelleri fizyolojik yönleri aslına yakın bir şekilde taklit eder ancak insanlarla uyumlu değildir. Çip-üstü-organ platformları, deneysel olarak kontrol edilebilir bir hücre kültürü sunarak fizyolojik açıdan daha önemli bir platform sağlar (Taverna ve ark., 2024).

2.5.1. Organoidlerin Çip-Üstü-Organ Sistemlerinde Kültürü

Organoidlerin çip-üstü-organ sistemlerinde kültürü; sınırlı besin tedariki ve kontrolsüz akışın önüne geçerek, dokuların mekanik ortamını gerçeğe en yakın şekilde taklit etmeye olanak tanır (Chauhdari ve ark., 2025). Organoidlerin mikroçiplere entegre edilmesi ise farklı yaklaşımlar ile sağlanabilir. Bu yaklaşımlardan birisi kök hücrelerden organoid oluşturulduktan sonra mikroakışkan çiplere transfer edilmesidir (Yosun ve ark., 2025). Bu şekilde üretilen organoidler, üretim ve optimizasyon açısından avantajlıdır. İn-vitro koşullarda tek seferde daha fazla organoid üretmek ve standartlaştırmak genelde daha kolaydır (Petrauskas ve ark., 2025). Ancak, organoidlerin dışarıda üretilip mikroçipe manuel transferi; hem zaman alıcıdır hem de organoid bütünlüğü ve canlılığını riske atabilir (Yosun ve ark., 2025).

Bir diğer yöntem ise, hücrelerin doğrudan mikroakışkan çipin bölmelerine veya kanallarına ekilerek organoidlerin çip içinde oluşturulmasıdır. Hücreler, hidrojel ile kaplanmış kuyucuk ve kanallara ekilir ve organoid oluşumu doğrudan çip içerisinde gerçekleşir. Bu kontrollü mikroçevre,

mekanik kuvvetlerin hassas kontrolü ile hücre farklılaşmasını yönlendirebilir (Chauhdari ve ark., 2025). Ancak bu teknikte, organoidlerin yoğunluğu, stabilitesi ve akış optimizasyonu dikkatlice planlanmalıdır (De Beuckeleer ve ark., 2024). Ayrıca, farklılaşma süreci üzerinde etkili olan inkübasyon sıcaklığı, pH, oksijen seviyeleri ve besi ortamının periyodik olarak yenilenmesi gibi çevresel faktörler de dikkate alınmalıdır (Chauhdari ve ark., 2025).



Şekil 2.11. Organoid oluşumunda kullanılan 3B teknikler (Hoarau-Véhot ve ark., 2018). (a) Asılı damla yöntemi: Hücreler bir Petri kabı kapağına damlatılır ve kapak, PBS içeren bir Petri kabının üzerine ters çevrilerek yerleştirilir. (b) Ultra düşük yapışkanlık plakaları: Hücreler, yüzeyine yapışmaları engellenmiş özel plakalara ekilir. (c) Süspansiyon kültürleri: Hücreler, dönel çalkalayıcı (spinner flask, sol) ya da biyoreaktörler (sağ) gibi sistemlerde yerçekimi kuvvetlerine maruz bırakılarak kültüre edilir. (d) İskele (scaffold) bazlı modeller: Hücreler, bir hidrojin üstüne ekilebilir (sol) veya doğrudan hidrojin içine gömülebilir (sağ). (e) Manyetik levitasyon: Hücreler kültür ortamında manyetize edilir ve yukarıda bulunan bir mıknatıs yardımıyla yukarı çekilir.

2.5.2. Çip-Üstü-Organ Çipinin ve Organoidin Karakterizasyonu

Karakterizasyon testleri, organoidlerin biyolojik doğruluğunu ve işlevselliğini değerlendirmek amacıyla çeşitli yöntemlerle uygulanabilir. İn vivo ortamla kıyaslandığında, çip-üstü-organ üzerinde kültürlen organoidler; boyut, canlılık ve proliferasyon oranı gibi faktörler açısından daha avantajlıdır. Mikroakışkan koşullarda organoidlerde vaskülarizasyon

gözlemlenebilir ve bu süreç yine karakterizasyon testleri aracılığıyla değerlendirilebilir (Papamichail ve ark., 2025).

Bazı organoidlerin, taklit ettikleri organın yapısal ve işlevsel özelliklerini yansıtmaları beklenir. Örneğin, karaciğer organoidlerinde uzun süreli albümin salgılanması, bu organoidlerin işlevsel özellikler kazandığını gösterir (Wang ve ark., 2018). Bir organoidi yapısal ve morfolojik olarak karakterize etmek amacıyla, immünohistokimya (IHC) ve immünofloresan (IF) gibi tekniklerden yararlanılır. Bu boyama yöntemleri, belirli proteinlerin organoid içerisindeki dağılımını, yerleşimini ve miktarını tespit etmek için kullanılır. Bu sayede organoidlerin farklılaşma düzeyleri değerlendirilebilir (Tong ve ark., 2024). Konfokal mikroskop ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) gibi görüntüleme teknikleri, hücre morfolojisinin detaylı bir şekilde karakterize edilmesini sağlar. Konfokal mikroskop kullanılarak, organoidler floresan boyalarla işaretlenip yapısal özellikleri incelenebilir. SEM ise, malzemelerin ve hücrelerin yüzey mimarisini yüksek çözünürlükte görüntülemeye olanak tanır (Chen ve ark., 2018). Organoidlerin doğru şekilde farklılaştığından emin olmak için bazı proteomik analizler de kullanılmaktadır. Bu kapsamda Kütle Spektrometresi ve Western Blot (WB) gibi teknikler örnek gösterilebilir (Tong ve ark., 2024). Farklı ilaçlara karşı hücresel yanıtları değerlendirmek için fonksiyonel testler uygulanabilir. Hücre canlılığı genellikle ATP düzeyinin ölçülmesiyle belirlenir. Bu tür testler, ilaçların sitotoksik etkilerini değerlendirmede önemli rol oynar. Gen ifadesini analiz etmek amacıyla ise genom dizileme, RNA sekanslama veya gen ekspresyonu analizleri gibi moleküler biyoloji tekniklerinden yararlanılır. Bu analizler, hücrelerin tedaviye verdiği yanıtları moleküler düzeyde anlamaya katkı sağlar (Papamichail ve ark., 2025).

Karakterizasyon, aynı zamanda organoidlerin ilaçlara karşı duyarlılığını ve yanıtını belirlemek için kritik öneme sahiptir. Organoidler, farklı ilaç konsantrasyonlarında fenotipik değişiklikleri gözlemleyerek ilaçların etkinliğini ve güvenilirliğini doğrular. Ayrıca, organoidlerin genetik ve moleküler profiller hakkında bilgi sağlayarak bireyselleştirilmiş tedavi yanıtlarını test etmek ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerine yenilikçi bir yaklaşım sunmak amacıyla da kullanılır (Tong ve ark., 2024). Son olarak, mikroakışkan çip içerisinde bulunan organoidlerin maruz kaldığı akış koşulları (kayma gerilmesi) da morfolojik yapıyı etkileyebilir. Bu nedenle, bu tür fiziksel koşulların organoid üzerindeki etkilerini değerlendirmek için özel testler uygulanarak karakterizasyon süreci tamamlanabilir (Tong ve ark., 2024).

Çizelge 2.1. Organoid Karakterizasyon Yöntemleri

Karakterizasyon Alanı	Yöntem/Teknik	Değerlendirilen Özellik
Yapısal ve Morfolojik	İmmünohistokimya(IHC), İmmünofloresan(IF)	Protein ekspresyonu ve hücre farklılaşması
Yapısal ve Morfolojik	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	Hücre yüzey morfolojisi
Yapısal ve Morfolojik	Konfokal Mikroskop	3B yapı, hücre dağılımı
Yapısal ve Morfolojik	Kayma Gerilmesi Testleri	Akış koşulları

Çizelge 2.1. Organoid Karakterizasyon Yöntemleri (devamı)

Karakterizasyon Alanı	Yöntem/Teknik	Değerlendirilen Özellik
Fonksiyonel	ATP Düzeyi Ölçümü	Hücre canlılığı ve sitotoksitesi
Fonksiyonel	İlaç Tarama Testleri	İlaç yanıtı, doz-tepki ilişkisi
Moleküler	Genom Dizileme, RNA Sekanslama, Gen Ekspresyon Analizleri	Genetik ve moleküler yanıtlar
Moleküler	Western Blot	Protein düzeyi
Moleküler	Kütle Spektrometresi	Protein Profili

2.6. Çip-Üstü-Organ Sistemlerinde İlaç Testleri

Her tümör, tedaviye yanıtı ve klinik sonuçları önemli ölçüde etkileyebilen heterojen bir tümör mikro ortamı ile ilişkilidir. Bununla birlikte, gen-ilaç ilişkisinin tedavi stratejilerinin kullanımı, ilaçlara tümör yanıtının biyolojik olarak anlaşılamaması nedeniyle sınırlı olabilir (Josephine ve ark., 2024). Başka bir deyişle, onaylanmış, hedefe yönelik ilaçlarla (örneğin, EGFR ve PIK3CA inhibitörleri) eşleşen mutasyonların (örneğin, EGFR veya PIK3CA mutasyonları) saptanması, bu yollardaki moleküler değişikliklerin mutlaka seçilen tedaviye duyarlı olduğu anlamına gelmez (Yoon ve ark., 2024). Kişiselleştirilmiş kanser tıbbi alanında, fonksiyonel genomik ve patolojik veriler ile hasta sonuçları arasındaki bağlantı büyük bir zorluktur. Bu zorluğun üstesinden gelmek için, kanser hücre çizgileri, hastadan türetilmiş organoid kültür yöntemleri gibi 3B kültür tümör modelleri dahil olmak üzere farklı kişiselleştirilmiş tümör modelleri önerilmiştir.

Çip-üstü-organ'lar, son birkaç yılda çeşitli hastalık modellemelerine ve ilaç testlerine ışık tutmaktadır. Birçok kanser hücresini taklit etmek ve uygun tedavi prosesinin hazırlanmasında ve kişiye özgü tedavi uygulanmasını sağlamaktadır. Geçmişten bugüne, beyin (Jaemyung ve ark., 2024) kalp (Hamidreza Aboulkheyr Es ve ark., 2018), karaciğer (Broutier ve ark.,2017), akciğer (Josephine ve ark., 2024), böbrek (Maschmeyer ve ark., 2015), mide (Broutier ve ark.,2017) kan-beyin bariyeri (BBB) (Bi ve ark., 2023), çeşitli çip-üstü-organ platformları oluşturulmuştur. Yapılan birçok çalışma hastadan türetilen organoidleri kullanılarak çip-üstü-organ platformları oluşturmanın önemini vurgulamaktadır. Organoidlerin bu başarısı kanser araştırmalarında tercih edilmesini ve oluşturma protokollerinin zamanla gelişmesini sağlamaktadır. Henüz evrensel bir yöntem bulunmamasıyla birlikte güncel çalışmalar organoid tek hücrelerinde ilaç yanıtlarını değerlendirmek için gereken optimize metodları ortaya sunmuştur (Kefallinou ve ark., 2020). Organoidler ilaç duyarlılığı testlerinde ayrımcı tepkiler gösterirler. Küçük bir konsantrasyon farkının bile ilaç etkinliğinde açık bir farkla görülmesi; platformun ilaç tarama platformu olarak kullanılmasını destekler (Patrino ve ark., 2007).

2.6.1. Kullanılan İlaçlar

Meme kanseri organoidleri için uygun ilaçlar belirlenirken, tümörlerin moleküler alt tipleri dikkate alınır. Bu tezde 2.2.3. başlığında anlatılan Lüminal A, Lüminal B, HER2 pozitif ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC) alt tipleri, HER2 ekspresyonu ve hormon reseptörlerine göre sınıflandırılır ve bu nedenle farklı hedefe yönelik tedavileri gerektirir (Campaner ve ark., 2020).

İlaç seçimi yapılırken, tümörün moleküler alt tipine uygun tedavinin belirlenmesi önemlidir. Östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve HER2 ekspresyon düzeyleri gibi biyobelirteçler, tümör hücrelerinin ilaçlara vereceği yanıtı tümüyle etkiler. Bu nedenle, doğru ilaç seçimi yapılmadan önce canlılık testleri gibi çeşitli in-vitro analizler uygulanmalıdır. Ayrıca, birden fazla ilacın veya tedavi yönteminin kombinasyonları farklı moleküler alt tiplerde test edilerek, kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının gelişimine katkı sağlanmaktadır.

Yapılan bir çalışmada (Pan ve ark., 2021), 40 farklı meme kanseri hastasından alınan primer tümörler, karaciğer metastazları ve metastatik aksiller lenf nodlarından toplam 35 başarılı meme kanseri organoidi üretilmiştir. Bu organoidlerin 23'ü Luminal tip meme kanseri, 9'u HER2-pozitif alt tipi ve 3'ü ise üçlü negatif meme kanseri (TNBC) olarak sınıflandırılmıştır. Üretilen bu organoidlerin sekiz tanesine sekiz farklı adjuvan tedavi ilacı (Tamoksifen, Fulvestrant, Paklitaksel, Dosetaksel, Siklofosamid, Epirubisin, Karboplatin, Palbosiklib) uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar, Luminal tip meme kanseri organoidlerinin hormon tedavilerine diğer alt tiplerden daha iyi yanıt verdiğini göstermiştir. Buna karşın, HER2-pozitif ve TNBC alt tiplerinin hormon tedavilerine daha az, kemoterapi ilaçlarına daha duyarlı olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, organoidlerin hem hastalar arasında hem de aynı hasta içerisindeki ilaç yanıtlarında farklılıklar tespit edilmiş ve belirgin bir heterojenlik ortaya konulmuştur. Bir başka çalışmada (Liu ve ark., 2022) meme kanseri hastasından aldığı luminal B tip örneklerinden hasta kaynaklı organoidler oluşturulmuştur. Organoidlerde; sitotoksik amaçla; paklitaksel, karboplatin ve dosetaksel, EGFR/HER2 hedefe yönelik; lapatinib, neratinib ve trastuzumab, hormon terapi ilacı olarak tamoksifen, PARP inhibitörü olaparib ve PIK3CA inhibitörü BYL719 test edilmiştir. Luminal B tip organoidler test edilen paklitaksel, karboplatin, neratinib ve lapatinib ilaçları arasında neratinibe karşı duyarlı, karboplatin ve lapatinibe karşı direnç, paklitaksele ise belirsiz yanıt göstermiştir. Yapılan testler neticesinde luminal B tip organoidlerin ilaç duyarlılığının değişken olduğunu, aynı amacı hedefleyen ilaçlara bile farklı yanıtlar alınabileceği ve kişiselleştirilmiş tedavide her ilacın test edilerek kişiye özel tedavi planında kullanımın ne kadar önemli olduğunu vurgulamıştır.

2.6.2. Dozaj Seçimi

Kanser organoidleri üzerinde ilaç testleri uygulanırken, yapılması gereken ilk adım doğru dozaj seçimidir. Doğru dozaj seçimi için ilaç optimizasyonu büyük önem taşır. Optimizasyon sürecinde, hücre canlılığı testlerinin uygulanması gereklidir. Buna ek olarak reaktif oksijen türleri

(ROS) üzerinden etki eden ilaçların doğruluğunu artırmak için N-asetilsistein (NAC)'in kültür ortamından çıkarılması gibi yöntemler etkili olmaktadır. Testler sonucunda elde edilen verilerle, organoid proliferasyonu ve canlılığını yansıtan doz-yanıt eğrileri oluşturularak ilaç optimizasyonu sağlanır (Smabers ve ark., 2024).

Organoidlerin ilaca duyarlılığını değerlendirmek için çeşitli metrikler kullanılır. Bu metrikler; IC_{50} (yarı-maksimal inhibisyon konsantrasyonu), AUC (doz-yanıt eğrisi altındaki alan), GR_{50} (yarı-maksimal büyüme hızı inhibisyonu sağlayan konsantrasyon), GRAUC (büyüme hızı inhibisyon eğrisi altındaki alan) değerleri kullanılır. gibi değerler yer almaktadır. Ayrıca ilaçlar çift fazlı yanıt verdiği eğriler gözlemlenirse GR_{501}/GR_{502} gibi ikili eşik değerleri kullanılabilir. Test sonuçları yorumlanırken, elde edilen GRAUC veya diğer metrik değerleri kullanılır. Düşük GRAUC veya düşük GR_{50}/GR_{502} değerleri genellikle ilaca karşı daha yüksek duyarlılığı gösterir. Organoidlerin ilaçlara verdikleri yanıtları incelemek için bu eğriler kullanılır (Smabers ve ark., 2024). Bu eğrilerden elde edilen veriler doğru şekilde yorumlanır ve kanser organoid özellikleri göz önünde bulundurularak optimizasyon sağlanır. Bu veriler hastanın klinik durumu gözetilerek uygun ilaç ve dozaj seçilir.

2.7. Gelecek Perspektifleri

Gelişen teknoloji ve araştırma koşulları, pluripotent kök hücrelerin farklı insan organ dokusu modellerine farklılaşmasının yeni yöntemlerini bize sunmuştur. Bu modellemeler, kanser tedavisinde umuun kapılarını açmıştır. Organoid entegre edilmiş bir çip platformu; hastalık modelleme, ilaç taraması, toksisite değerlendirmesi gibi önemli uygulamaları kapsamaktadır (Josephine ve ark., 2024). Çip üzerinde organ modelleri, in vivo mikro ortamı yakından taklit ederek viral enfeksiyonlara organ düzeyindeki tepkilerin daha doğru bir temsilini sağlar. Bu fizyolojik uygunluk, virüsler ile konakçı arasındaki hücresel ve doku düzeyindeki karmaşık etkileşimlerin daha iyi anlaşılmasına olanak tanır. Gelecekte, virüs araştırmalarında organoidlerin uygulanması, viral patogenezin çeşitli yönlerini araştırmak için daha da genişletilerek bazı viral hastalıkların önüne geçilmesinde bir avantaj sunabilir (Shen ve ark., 2024).

Yakın gelecekte, ilaç keşfi ve kanser taraması için çip-üstü-organ platformları yenilikçi yaklaşımlarla geliştirilerek öncelikli olarak talep edilmesi beklenir. Günümüzde bu sistemlere yönelik optimize edilmiş protokoller hala canlı insan vücudunun karmaşık etkileşimlerini tam olarak taklit edememektedir. Önemli ilerlemeler kaydedilmesine rağmen, birçok organ çipi modeli hâlâ insan vücudunun ilaçlara tepkisinde kritik bir rol oynayan damar ve bağışıklık sistemi bileşenlerini entegre etme konusunda zorluk yaşamaktadır. Çip-üstü-organ teknolojisindeki bu gelişmeler biyoçip tabanlı ilaç platformlarının gelecekte daha üstün performans göstereceğini kanıtlar niteliktedir. İlaç tarama testlerindeki bu başarı, kanser hastalığının kişiselleştirilmiş tedavisi için de umut taşımaktadır.



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Çip-Üstü-Organ Tasarımı ve Üretimi

3.1.1. Kalıp Üretimi

Mikroçip kalıbı, katı cisim modelleme programıyla 3 boyutlu olarak tasarlandı. Tasarım, Creality Sermoon D1 marka 3 boyutlu yazıcı kullanılarak yüksek çözünürlüklü şekilde basıldı. Kalıp, mikrokanal ve kuyucuk yapılarının yüzey detaylarını net şekilde yansıtacak biçimde hazırlandı. Baskı sonrasında kalıp önce kağıt zımpara ile zımparalandı, sonrasında eter ile yıkandı. Pürüzsüz bir doku istendiği için yıkama işlemi sonrasında vernik ile boyandı.

3.1.2. Çip-Üstü-Organ Platform Üretimi

Polidimetilsiloksan (PDMS, Sylgard 184, Dow Corning firması, Amerika), üretici talimatlarına uygun olarak 10:1 oranında silikajel ve sertleştirici ajan karıştırılarak hazırlandı. Hazırlanan karışım, 4000 devir/dakika hızla 10 dakika santrifüjlenerek önceden hazırlanmış kalıp üzerine döküldü. Isıtma tablası üzerinde 60 °C sıcaklıkta 20 dakika bekletilerek hava kabarcıklarından arındırıldı. Etüv önceden açılıp 80 °C sıcaklığa ulaştıktan sonra kapatıldı. Elde edilen PDMS, etüv içerisinde bir gece bekletildikten sonra kalıptan dikkatlice çıkarıldı ve mikrokanal ile kuyucuk yapıları olan bir tabaka elde edildi. Kuyucuklar bistüri yardımıyla delindi. Mikroçipin alt yüzeyi olarak kullanılacak cam lam (Isotherm, Almanya), %70'lik etanol ile temizlendi ve kuruduktan sonra üzerine ince bir katman halinde silikajel sürüldü. Aynı şekilde, PDMS yüzeyi de ajansız silikajel ile işleminden geçirilerek her iki yüzey birbirine yapıştırıldı. Bu işlem sonucunda, sızdırmayan ve amaca uygun şeffaf çip-üstü-organ düzeni elde edildi.

3.1.3. Sterilizasyon ve Hazırlık

Elde edilen mikroçipler, kullanım öncesinde %70 etanol ile yıkandı ve steril Petri kabı içerisinde morötesi ışık altında 30 dakika boyunca sterilize edildi. Sterilizasyon sonrası çipler, hücre kültürü ortamına alınarak kullanıma hazır hale getirildi. Bu mikroçip düzeneği, daha sonrasında meme kanseri hücrelerinin (MCF-7) ekimi, organ benzeri hücre topluluğu oluşumu ve ilaç uygulamaları için kullanılacaktır.

3.2. Stoktan Hücre Çözme ve Organoid Oluşturulması

3.2.1. Stoktan Hücre Çözme

Bu çalışmada, insan meme bezine ait adenokarsinomdan elde edilmiş MCF-7 hücre hattı kullanıldı. Hücreler, -80 °C'de saklanan stoklardan alınarak, 37 °C sıcaklıktaki su banyosunda hızlı

şekilde çözdürüldü. Çözdürülen hücre süspansiyonu, 1800 devir/dakika hızda 5 dakika santrifüj edilerek koruyucu çözücü uzaklaştırıldı. Elde edilen hücreler, %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin-streptomisin içeren Dblecco modifiyeli Eagle besiyeri (DMEM) ile homojenize edilerek T-75 hücre kültür kabına aktarıldı. Hücreler, 37 °C sıcaklık ve %5 karbondioksit ortamında kültüre alındı ve kültür kabı yüzeyinin %70–80’ini kaplayıncaya kadar çoğaltıldı.

3.2.1.1. Hücrelerin Pasajlanması

Hücrelerin bulunduğu kültür kabı, kalsiyum (Ca^{2+}) ve magnezyum (Mg^{2+}) içermeyen fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ile yıkandıktan sonra yüzeyi kaplayacak şekilde %0.25 tripsin/EDTA eklendi. 37 °C’de yaklaşık 5 dakika bekletilerek (inkübasyon) hücrelerin yüzeyden ayrılması sağlandı. Ardından, %10 fetal sığır serumu (FBS) içeren Dblecco modifiyeli Eagle besiyeri/F12 (DMEM/F12) eklenerek tripsin etkinliği durduruldu ve hücre süspansiyonu Falcon tüpüne aktarıldı.

Tüp, 1600 devir/dakika hızında 5 dakika santrifüj edilerek üst sıvı (süpernatant) uzaklaştırıldı. Elde edilen hücre çökelti kitlesi (pelet), tam besiyeri ile homojenize edildi. Hücre süspansiyonundan alınan örnek, 1:1 oranında tripan mavisini ile karıştırılarak Thoma lamı kullanılarak hücre sayımı yapıldı.

3.2.2. Organoid Oluşturulması

Organoid farklılaşma besiyeri, gelişmiş DMEM/F12 (Advanced DMEM/F12) baz alınarak hazırlanmıştır. Bu besiyerine, hücre sağkalımı ve çoğalmasını desteklemek amacıyla çeşitli büyüme faktörleri, takviyeler ve sinyal yollarını düzenleyici moleküller eklenmiştir. Son konsantrasyonları dikkate alınarak; %1 (v/v) oranında penisilin/streptomisin (500 μL), 10 mM son konsantrasyon elde edilecek şekilde HEPES tamponu (5 mL, 1 M stoktan), %1 (v/v) oranında GlutaMAX (500 μL , 100X stoktan) ve 1X oranında B27 takviyesi (50X stoktan) ortama ilave edilmiştir. Ayrıca; Neuregulin 1 (5 nM), FGF7 (5 ng/mL), FGF10 (10 ng/mL), epitel büyüme faktörü (EGF) (5 ng/mL), Noggin (100 ng/mL), R-Spondin 3 (250 ng/mL), A83-01 (500 nM), Y-27632 (5 μM), SB202190 (500 nM), N-asetil L-sistein (1.25 mM) ve nikotinamid (5 mM) eklenerek besiyeri tamamlanmıştır. Son olarak, toplam hacim 50 mL olacak şekilde gelişmiş DMEM/F12 ile tamamlanmıştır. Bu özel içerikli besiyeri, organoidlerin farklılaşması ve uzun süreli kültürü için optimize edilmiştir.

3.3. Çip-Üstü-Organ Sisteminde İlaç Testleri

3.3.1. Mikroçipe Hücre Ekimi

Steril koşullarda hazırlanmış PDMS mikroakışkan çip platformunun kuyucuklarına, Matrigel ile karıştırılmış MCF-7 hücre süspansiyonu ($\sim 1 \times 10^6$ hücre/mL) 10 μL hacminde pipet

yardımıyla eklendi. Kuyucuklara ekilen hücreler, 37°C’de 30 dakika Matrigel’in jel formuna geçmesi için inkübe edildi. Ardından, her iki kanaldan da serumlu tam besiyeri ile çip yavaşça doldurularak 24 saat boyunca hücrelerin uyum sağlaması sağlandı.

3.3.2. Histolojik Değerlendirme

Mikroçipe yerleştirilen organoidlerin adaptasyonunu değerlendirmek amacıyla, mikroçipte kültüre edilen organoidler 24 saat boyunca inkübatörde bekletildi. Süre sonunda organoidler mikroçipten çıkarılarak dikkatli bir şekilde kesitler alındı. Alınan kesitler, standart hemotoksilen-eozin (H&E) boyama protokolü ile boyandı.

Öncelikle kesitler %70 alkol serisi ile dehidrate edilip, ardından hematoksilen solüsyonunda yıkandı. Daha sonra eozin solüsyonunda boyandı ve tekrar alkol serisi ile geçirildi. Son olarak ksilen ile şeffaflaştırma işlemi yapılarak lam üzerine montajlandı. Boyama sonrası organoidlerin morfolojik bütünlüğü ve hücresel yapı mikroskop altında incelendi.

3.3.3. İlaç Optimizasyonu

Ribociclib etken maddeli ilaç solüsyonu organoidler üzerinde optimum dozunun belirlenmesi için ilaç optimizasyon çalışması gerçekleştirildi. Ribociclib etken maddeli ilacın stok solüsyonu, 10 mM konsantrasyonunda DMSO içerisinde çözündürüldü. İlaç uygulamasında, seri dilüsyon yöntemi kullanılarak çözeltinin bir önceki çözeltiden belirli oranda seyreltilmesi sağlandı. 1.95 nM, 3.90 nM, 7.81 nM, 15.6 nM, 31.25 nM, 62.5 nM, 125 nM, 250 nM, 500 nM ve 1000 nM dozları organoidlere uygulandı. Bu dozlara ek olarak boş grup ve kontrol grubu dahil edildi. Boş grup, sadece ilaçlı kültür ortamı içerdi organoid bulunmadı; kontrol grubunda ise sadece organoidlerin ilaçsız kültür ortamı bulundu. Ribociclib etken maddeli ilaç çözeltileri her doz için üç tekrar olacak şekilde uygulandı. Her kuyucuğa 100 µl ilaçlı ortam eklendikten sonra plaklar 37°C ve %5 CO₂ içeren inkübatörde 72 saat boyunca inkübe edildi.

3.3.3.1. WST-8 Analizi

İlaç uygulamasının ardından hücre canlılığı, metabolik aktivite ölçümüne dayanan WST-8 (Water-Soluble Tetrazolium salt-8) testi ile değerlendirildi. Mikroçip kuyucuklarındaki Matrigel, %2'lik EDTA/PBS çözeltisi ile 37 °C'de 10 dakika inkübe edilerek dikkatlice çözüldü. Elde edilen süspansiyon hafifçe pipetlenerek mekanik olarak ayrıştırıldı ve tüm hücrelerin etkin şekilde toplandığından emin olmak için işlem mikroskop altında kontrol edildi. Hücreler, 1500 devir/dakika hızında 5 dakika santrifüjlenerek çöktürüldü; süpernatant uzaklaştırıldı ve pellete WST-8 reaktifi içeren kültür ortamı eklendi. Numuneler, üretici firmanın protokolüne uygun şekilde 37 °C'de inkübe edilerek renk gelişimi sağlandı. Absorbans değerleri mikrotiter plaka okuyucu (450 nm) ile ölçüldü ve her konsantrasyon grubundaki hücre canlılık oranları belirlendi (Sigma-Aldrich, n.d.).

3.3.4. Mikroçipte İlaç Uygulama Protokolü

Bir önceki aşamada yapılan optimizasyon testinde en uygun konsantrasyonun 500 nM'lik doz olduğu belirlenmişti. Bu nedenle 500 nM Ribociclib etken maddeli ilaç solüsyonu kullanıldı. Hazırlanan solüsyon, şırınga pompası (New Era Pump Systems, ABD) ile çipin giriş kanalından 1 µl/dk, 5 µl/dk ve 10 µl/dk olmak üzere üç farklı akış dbilerinde sırasıyla 2,5 saat, 30 dakika ve 15 dakika boyunca uygulandı ve 24 saat 37°C ve %5 CO₂ içeren inkübatörde bekletildi.

3.3.5. Statik Kültür Koşullarının Değerlendirilmesi

Dinamik akış koşullarını karşılaştırmak amacıyla statik akış kontrol grubu oluşturuldu. Bu grupta, 500 nM ilaç konsantrasyonu pipet yardımıyla mikroçipteki organoidlere, şırınga pompası ile uygulanan 1 µL/dk, 5 µL/dk ve 10 µL/dk akış hızlarında geçen toplam süre ve hacme eşdeğer

olacak şekilde manuel olarak verildi. Böylece, her akış debisine karşılık gelen toplam ilaç miktarı ve temas süresi statik koşulda sağlanmış oldu.

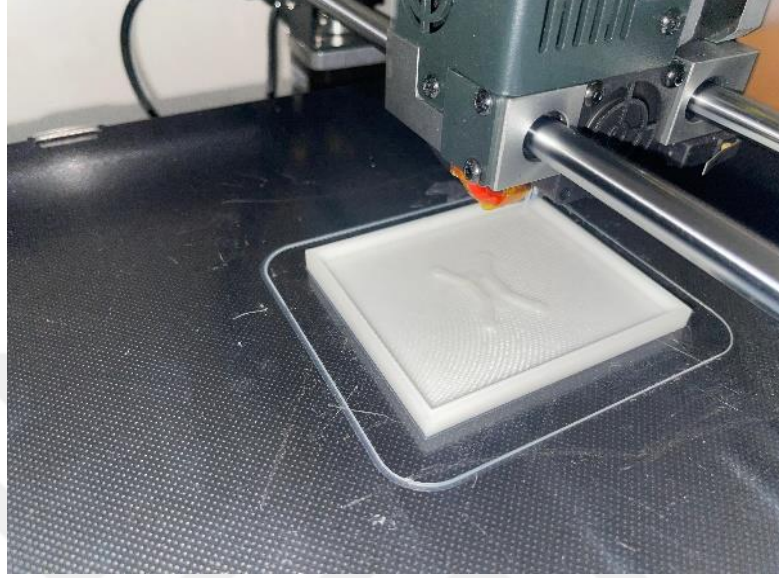
3.3.6. İmmünofloresan Boyama ile Hücre Proliferasyonunun Değerlendirilmesi

İlaç uygulaması sonrasında çip üzerindeki organoidler, boyama işlemi için sabitlenerek kesitleri alındı. Öncelikle %4 paraformaldehit (PFA) ile 15 dakika boyunca sabitlenen örnekler, fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandı. Ardından, geçirgenlik sağlamak amacıyla %0,1 Triton X-100 içeren PBS ile 10 dakika inkübe edildi. Arka plan boyanmasının önlenmesi için %1 BSA çözeltisi ile örnekler işleme alındı. Daha sonra DAPI (çekirdek boyası) ve Ki-67 (proliferasyon markırı) ile boyama yapıldı. Boyanan kesitler floresan mikroskop altında görüntülendi. Elde edilen görüntüler ImageJ yazılımı ile analiz edilerek, farklı akış hızlarındaki ilaç konsantrasyonunun canlı/ölü hücre oranları karşılaştırıldı (Sigma-Aldrich, n.d.).



4.1.2. Kalıp Üretim

Mikroçip tasarımı katı cisim modelleme programı aracılığıyla tasarlandı ve Ultimaker Cura 3D dilimleyici programı ile baskıya hazır hale geldi. Kalıp, Creality Sermoon D1 3B yazıcı ile yüksek kalitede, 1,75mm çapında ve beyaz filamentlerle basıldı (Şekil 14).



Şekil 4.2. 3B yazıcı ile kalıp baskısı

Baskı sonrası kalıpta oluşabilecek yüzey pürüzlülüğü ve düzensizlikleri gidermek amacıyla, kalıp eter ile dolduruldu ve Petri kabı içerisinde iki saat bekletildi. Daha sonra yüzeyin düzgünlüğünü sağlamak için kâğıt zımpara ile manuel olarak zımparalandı. Organoidlere ilaç ve kültür ortamı uygulanırken mikroakışkan sistemler kullanılmakta ve bu adımların takip edilmesi mikro ölçekte sıvı transferi sırasında yüksek hassasiyetin sağlanması ve kontrollü akış için önemlidir.

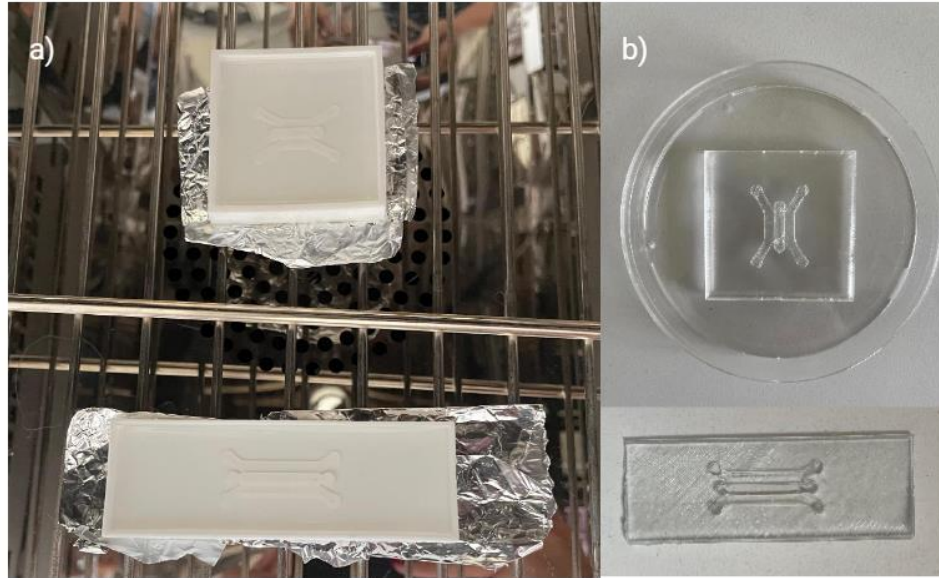
Baskı sonrası kalıpta oluşabilecek yüzey eşitsizlikleri ve pürüzlülüğü gidermek amacıyla, kalıp öncelikle eter ile doldurulmuş bir Petri kabında iki saat bekletildi. Ardından kâğıt zımpara ile manuel olarak zımparalandı. Organoidlere ilaç ve kültür ortamı uygulanmasında kullanılan mikroakışkan sistemlerin mikro ölçekte sıvı transferi yapılırken yüksek hassasiyeti ve kontrollü akışı için bu adımlar önemlidir.

4.1.3. PDMS Mikroçip Üretimi

Hazırlanan kalıba dökülmek için, 10:1 oranında silikon bazlı PDMS (polidimetilsiloksan) jel ve kürleme ajanı, hassas terazi ile tartılarak hazırlandı. İki farklı plaka için de 8,0 g PDMS jeline 0,8 g kürleme ajanı eklenerek karışım yavaşça homojen hale gelene kadar karıştırıldı. Baloncuk oluşumu, mikroskop altında organoidlerin görüntülenmesini zorlaştıracığından bu aşamada dikkatli olunması gerekti. Hazırlanan ve henüz kürlenmemiş karışımlar, ayrı ayrı 15 mL'lik Falcon

tüplerine aktarıldı ve 4000 rpm hızında, 10 °C’de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Ardından, %70’lik etanol ile sterilize edilen kalıplara karışımlar yavaşça döküldü. Bu işlem sırasında PDMS jeli kalıbın tek bir noktasından yavaşça dökerek baloncuk oluşumu minimuma indirilmeye çalışıldı. Jel, kürlenmesi için 50 °C’ye ayarlanmış etüvde 4 saat boyunca bekletildi.

Kürleme işlemi sonrasında PDMS, kalıptan dikkatlice çıkarıldı. Kuyucuklar, kanallara zarar vermeden biyopsi iğnesi kullanılarak delindi. Standart laboratuvar lamı (75 mm × 25 mm × 1 mm) üzerine, artan kürlenmemiş PDMS jeli yapıştırıcı görevi görmesi amacıyla ince bir katman halinde sürüldü. PDMS yapı bu yüzeye yerleştirildi ve tam yapışmayı sağlamak için 60 °C’ye ayarlanmış hot plate üzerine konuldu; işlem sırasında ara ara bastırılarak yüzeyler arasında tam temas sağlandı. Elde edilen PDMS mikroçip, önce %70’lik etanol ile sterilize edildi, ardından 1 saat boyunca UV ışığına maruz bırakılarak kullanıma hazır hale getirildi.



Şekil 4.3. a) PDMS jel dökülmüş kalıplar 50 °C etüvde bekletildi. b) Kalıptan çıkarılmış PDMS yapılar.

4.2. Organoid Oluşturulması

MCF-7 meme kanseri hücrelerinden organoid elde etmek amacıyla, pasajlama sonrasında 1800 rpm devirde 5 dakika boyunca santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. Hücre pelleti 8ml tamamlama besiyeri ile sulandırıldıktan sonra 480.000 hücre içeren 160 µL hücre süspansiyonu, 1.44 mL Matrijel ile karıştırılarak kuyucuk başına 15 µL olacak şekilde, hidrofobik yüzeye sahip ve hücre tutunmasını engelleyen 96 kuyucuklu kültür plakasına (Nunc Sphera, Thermo) ekildi.

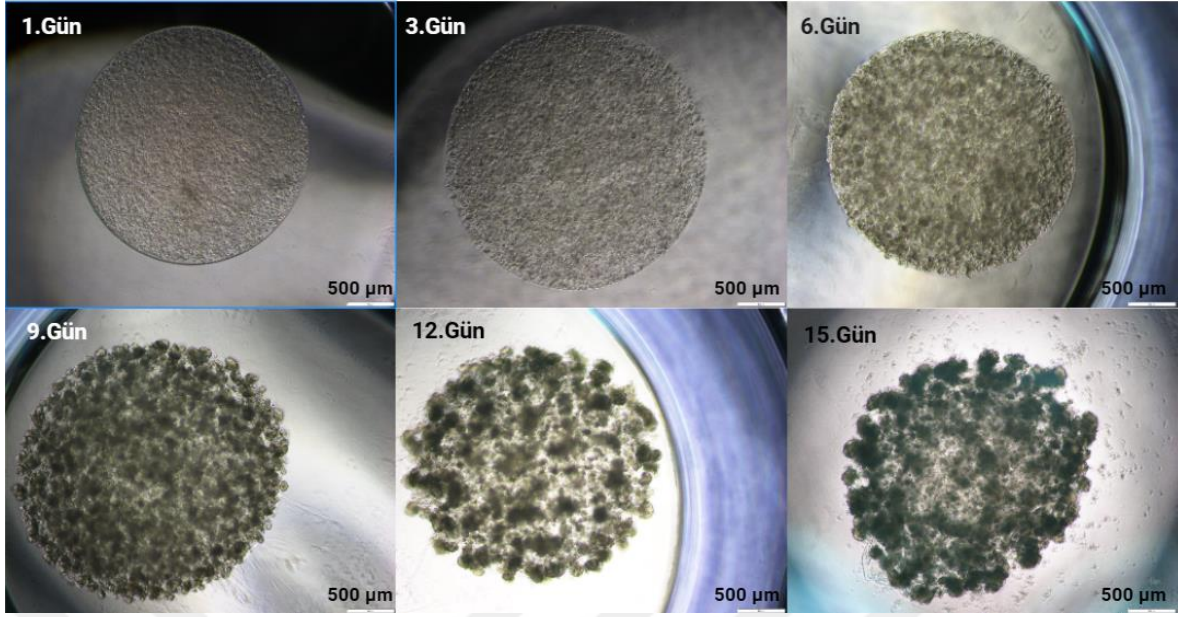
Matrijel, sıvı formda 4 °C’de saklanmalıdır. 37 °C’de fizyolojik sıcaklığa ulaştığında jel formuna geçer. Bu nedenle, Matrijel ile hücre karıştırılırken buzlu falkon tüp standı üzerinde ve soğuk pipet uçlarıyla deney yapıldı ve hücrelerin üç boyutlu olarak gömüleceği jel matrisin homojenliği korundu. Matrigel’in jel formuna geçebilmesi için plakalar 37 °C’de 2 saat süreyle

inkübe edildi. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra, her bir kuyucuğa organoid farklılaşma ortamı ilave edildi. Bu ortam, Advanced DMEM/F12 bazlı olup; R-Spondin 3, Neuregulin 1, FGF7, FGF10, EGF, Noggin, A83-01, Y-27632, SB202190, B27 supplement, N-Asetil L-sistein, Nikotinamid, Glutamax, Hepes, Penisilin/Streptomisin ve Primocin gibi hücre farklılaşmasını ve çoğalmasını destekleyen çeşitli büyüme faktörleri ve destekleyici moleküller içermektedir (Lancaster & Knoblich, 2014).

Çizelge 4.1. Organoid Besiyeri Bileşenleri

Bileşen	Konsantrasyon	Etkisi
Penisilin/Streptomisin	500 µL	Bakteriyal kontaminasyonu önler.
HEPES (1 M)	5 mL	pH stabilitesini korur.
GlutaMAX™ (100X)	500 µL	Hücre enerji metabolizmasını destekler.
B27 supplement (50X)	1X	Hücre beslenmesini ve hayatta kalımını destekler.
Neuregulin 1 (NRG1)	5 nM	Hücre farklılaşması ve hayatta kalma sinyallerine katkıda bulunur.
FGF7 (Keratinocyte GF)	5 ng/mL	Epitel hücre proliferasyonunu uyarır.
FGF10	10 ng/mL	Hücre büyümesi ve epitel gelişimi için destek sağlar.
Nikotinamid (Vitamin B3)	5 mM	Hücre proliferasyonunu ve morfolojisini destekler.
Y-27632	5 µM	Pasaj sonrası hayatta kalımı artırır, apoptozu önler.
SB202190	500 nM	p38 MAPK inhibitörüdür ve hücre özelleşmesini baskılar.
EGF (Epidermal GF)	5 ng/mL	Organoid yapılarının düzenli gelişimini desteklemiştir
N-Asetil L-sistein	1.25 mM	Antioksidan görevi görür, hücre stresini azaltır.
Noggin	100 ng/mL	Kök hücrelerin farklılaşmasını inhibe eder ve stabilize sağlar.
A83-01	500 nM	TGF-β inhibitörüdür, farklılaşmayı baskılar.
R-Spondin 3	250 ng/mL	Wnt sinyal yolunu aktive ederek kök hücre proliferasyonu sağlar.
Advanced DMEM/F12	Tamamlayacak şekilde(50mL)	Temel kültür ortamı; glukoz, amino asit ve vitamin içerir.

Bu bileşenlerin bir aradaki etkisi, MCF-7 organoidlerinin morfolojik ve fonksiyonel olarak üç boyutlu tümör mikroçevresini taklit etmesine yardımcı olur. Organoidler bu besiyeri içerisinde 15 gün süreyle kültüre edildi ve her üç günde bir ortam değişimi sağlanarak süreç gözlemlendi.



Şekil 4.4. MCF-7 hücrelerinden oluşturulan organoidlerin 1.,3.,6.,9.,12. ve 15. gündeki morfolojik değişimlerin sırasıyla 500 µm (4x) büyütme altındaki görüntüleri. Besiyeri içerisinde 15 günlük süreç boyunca hücrelerin matrijel içinde 3 boyutlu olarak organize oldukları ve zamanla küresel yapılar oluşturdukları mikroskop altında gözlemlendi.

Birinci günde, matrijel içerisine gömülen hücreler yaklaşık 142 µm çapında yuvarlak yapılar oluşturmaya başladı. Ancak bu yapılar henüz kompakt değildi; adaptasyon sürecinin erken evresinde olduklarından, hücre-hücre bağlantıları tam olarak gelişmedi. Üçüncü günde, hücreler çevresel koşullara uyum sağladı ve birbirlerine yaklaşarak daha sıkı bir yapı oluşturdu. Bu evrede çap, 110.4 µm olarak ölçüldü. Altıncı günde, organoid yapılar daha düzenli hale geldi ve çapta sınırlı bir artışla 115.7 µm'ye ulaştı. Dokuzuncu günde, çap 84.3 µm'ye düştü. Bu durum, hücrelerin merkezde birikerek kompakt bir çekirdek oluşturduğunu ve periferdeki hücrelerin bu yapıya doğru yoğunlaştığını gösterdi. Bu evre, proliferasyon gradyanının şekillenmeye başladığı kritik bir dönemi temsil etti. On ikinci günde ise çap belirgin şekilde artarak 126 µm'ye ulaştı. Bu genişleme, özellikle organoidin dış katmanındaki hücrelerin yüksek proliferasyon kapasitesinden kaynaklandı. Kompakt merkezin çevresinde devam eden hücre çoğalması, periferik alanda hacimsel bir artışa yol açtı. Bu durum, literatürde sıkça tanımlanan ve 10–12. günler arasında gözlemlenen geçici proliferatif büyüme evresiyle uyumluluk gösterdi (Fatehullah ve ark., 2016). Aynı zamanda, merkezdeki hücre yoğunluğu, hipoksik koşulların oluşmaya başladığını düşündürdü. On beşinci gün itibarıyla, çap yeniden azaldı ve 96 µm'ye geriledi. Organoid yapılar daha koyu ve düzensiz bir görünüm kazandı. Bu değişim, oksijen ve besin sınırlılığine bağlı olarak hücre canlılığının azaldığını ve organoid merkezinde ilerleyici hücre ölümünün başladığını gösterdi. Dış katmandaki canlı ve kompakt hücre oranı da belirgin biçimde azaldı. Elde edilen bu bulgular, tümör mikroçevresine benzer şekilde organoidin içinde de büyümeyi kısıtlayan

mikroçevresel baskıların oluştuğunu ve bunun hücrelerin proliferasyon kapasitesini sınırladığını ortaya koydu.

Tüm çap ölçümleri, 500 µm ölçek çubuğuna sahip mikroskopik görüntüler kullanılarak ImageJ yazılımı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

Literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında, elde edilen bulguların MCF-7 organoidlerinin zamana bağlı yapısal gelişim süreciyle örtüştüğü görüldü. Pulze ve ark. (2020) çalışmasında, MCF-7 hücrelerinden oluşan sferoidlerde ilk 24 saatte hücreler arası ince sitoplazmik köprüler gibi erken bağlantılar gözlemlenmiş ve hücre-hücre iletişiminin başlatıcısı olarak tanımlanmıştır. Üçüncü günden itibaren sferoid yapılar daha kompakt hale gelmiş, yedinci günde merkezde hücre yoğunluğu artmış ve dış katmanda proliferatif aktivite belirginleşmiştir. On beşinci gün itibarıyla merkezde hipoksik koşullara bağlı olarak canlılıkta azalma ve nekroz benzeri morfolojik değişiklikler tanımlanmıştır. Bu bulgular, çalışmamızda gözlemlenen yapısal kompaktlaşma, hücre proliferasyonu ve merkez bölgedeki canlılık kaybı gibi morfolojik değişimlerle örtüştü.

4.3. Mikroçipte İlaç Testleri

4.3.1. İlaç Optimizasyonu

Uygun doz ve etki süresini saptamak için MCF-7 organoidlerine artan konsantrasyonlarda Ribociclib etken maddeli ilaç çözeltisi uygulandı. Doz aralıkları 1,95 nM'den başlayarak 1000 nM'ye kadar kademeli şekilde arttırıldı. Üç tekrarlı yapılan bu uygulamada, ilaç verildikten sonra organoidler 37°C ve %5 CO₂ içeren inkübatörde 72 saat boyunca inkübe edildi. 72 saat sonunda hücre canlılığını ölçmek amacıyla WST-8 testi yapıldı. Sonuçlar, mikrotitre plaka okuyucu ile 450 nm absorbans dalga boyunda ölçüldü ve renk değişimine göre hücrelerin metabolik aktivitesi tayin edildi.

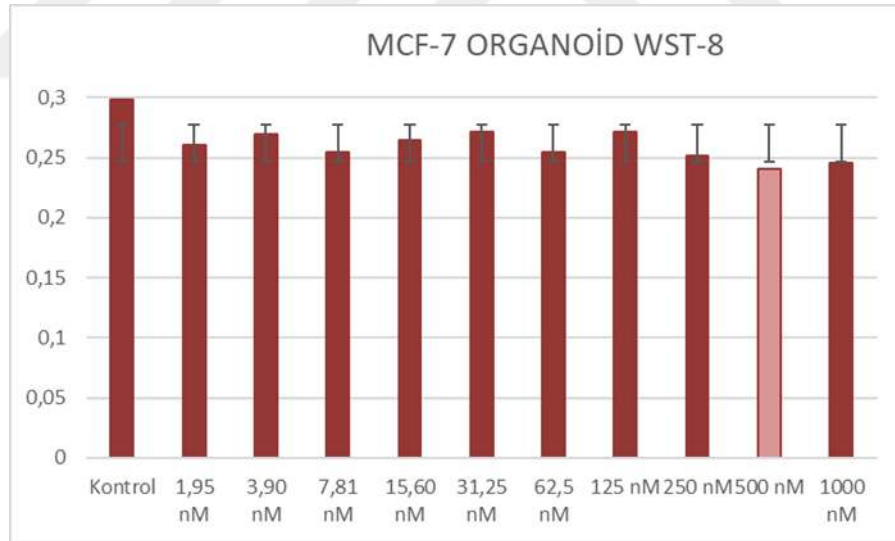
Kullanılan ilacın etken maddesi Ribociclib olup, özellikle hormon reseptörü pozitif (HR+) ve HER2 negatif özellik taşıyan MCF-7 gibi meme kanseri hücrelerinde tercih edilmektedir. Ribociclib, hücre döngüsünü G1 fazında durdurarak tümör hücrelerinin çoğalmasını engeller (Hortobagyi ve ark., 2016).

Yapılan ölçümler sonucunda A450 absorbans değerleri, hücre canlılığı ve proliferasyon yüzdesi hakkında bilgi sağladı. Boş (Blank) grup, ilaçsız ve hücresiz ortam içermekteydi ve bu grubun absorbans değerleri ortalama 0.153 olup referans olarak kullanıldı. Kontrol grubunda ise yalnızca organoid besiyeri kullanılmış olup, A450 değerinin ortalama 1.346 olduğu görüldü (Şekil 4.6). İlaç uygulanan gruplarda genel olarak doz arttıkça hücre canlılığında yüzdeli olarak azalma gözlemlendi. 7.81 nM ve 62.5 nM konsantrasyonlarında absorbans değerinin sırasıyla 1.182 ve 1.205 olduğu görüldü. Bu değerler, kontrol grubuyla kıyaslandığında canlılıkta azalma olduğunu gösterdi. Ancak, 15.6 nM ve 125 nM konsantrasyonlarının absorbans değerlerinin sırasıyla 1.291

ve 1.288 olarak ölçülmesi, canlılık düzeylerinin kontrol grubuyla benzerlik gösterdiğini ortaya koydu. 500 nM ve 1000 nM dozlarında absorbans değerlerinin sırasıyla ortalama 1.165 ve 1.186 olarak belirlenmesi, bu konsantrasyonlarda hücre canlılığında yüksek derecede azalma olduğunu gösterdi. Bu da Ribociclib'in yüksek dozlarda hücre çoğalmasını etkili bir şekilde baskıladığını ortaya koydu.



Şekil 4.5. MCF-7 organoidlerinin WST-8 analizine bağlı absorbans ölçümü sonrası plaka görüntüsü

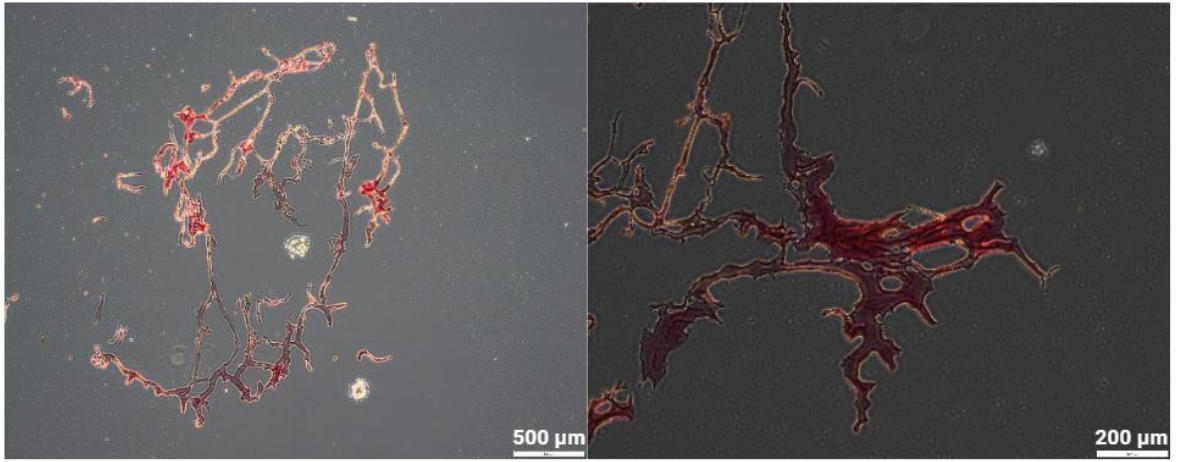


Şekil 4.6. MCF-7 organoidlerine verilecek ilacın doğruluğunu saptamak için yapılan WST-8 analizinin sonuç grafiği. Sonuçlar standart sapma grafiğine göre düzenlenmiştir.

Yapılan WST-8 analizi sonucunda, mikroakışkan çip üzerinde organoidlere verilecek ilacın dozunun 500 nM olmasına karar verildi. Bu doz, hem canlılıkta anlamlı bir azalma yarattı hem de önceki dozlarla kıyasla daha belirgin bir antiproliferatif etki gösterdi.

4.3.2. Çip-Üstü-Organ Platformuna Organoid Ekimi

Organoidler, kültürlerinin 15. gününde mikroakışkan çip sisteminin orta kuyucuğuna ekildi. Ekim sırasında, matrijele gömülü organoidlerin yüzeye tutunmasını sağlamak için kuyucuk içerisine 5 μ L matrijel eklendi. Ardından organoidler, matrijelli kuyucuğa ekildi. Mikropipet yardımıyla yan kuyucuktan 100 μ L organoid besiyeri verildi. Organoidler, besiyeri içerisinde mikroçipte bir gece inkübe edildi. Takip eden süreçte, histolojik bütünlük ve doku adaptasyonunu değerlendirmek amacıyla Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyama işlemi uygulandı (Şekil 4.7). Boyama sonrası yapılan mikroskopik incelemelerde, organoidlerin mikroçip ortamında yapısal bütünlüklerini koruduğu ve doku organizasyonlarının büyük ölçüde sürdüğü gözlemlendi.



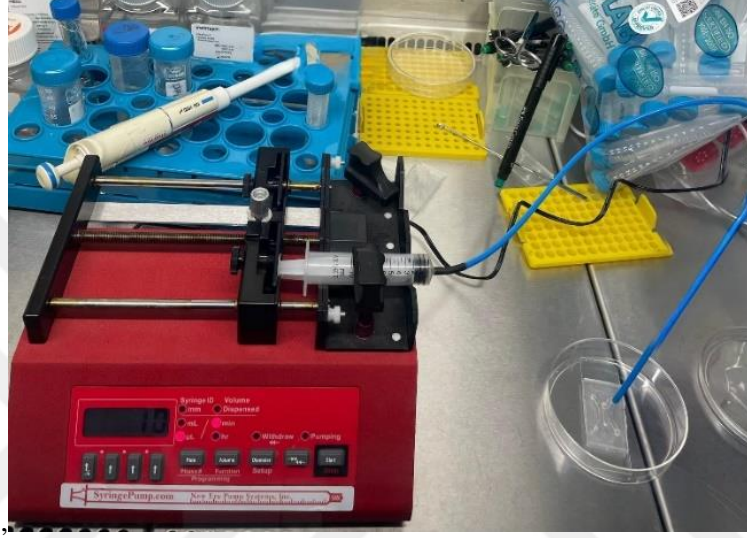
Şekil 4.7. H&E boyaması yapılmış organoidlerin 500 μ m (4x) ve 200 μ m (10x) büyütme altındaki görüntüsü.

Organoidlerin iki farklı ölçekteki görüntüsü incelendiğinde, merkezi bölgelerde daha büyük ve sıkı yapılar bulunurken uçlara doğru ince dallanmış yapılar olduğu görüldü. Organoidler mikroçip üzerinde başarılı bir şekilde tutundu ve yayılım gösterdi. Organoidlerin ince dallanmış yapısı, hücrelerarası iletişimin devam ettiğini gösterebilirdi. Nükleus, hemotoksilen ile koyu mor-mavi; sitoplazma ve ECM ise eozin ile açık pembe-kırmızı tonlarda boyandı. Boyanan alanlara bakıldığında hücre bütünlüğünün büyük ölçüde korunduğu gözlemlendi. Boyama sonucunda, MCF-7 organoidlerinin mikroakışkan çip içerisinde bütünlüklerini koruduğu ve yeterli besiyerinin bulunduğu mikroakışkan çip içerisinde bir gece kalmalarının zarar vermediği görüldü.

4.3.3. Mikroçipte İlaç Akış Testi

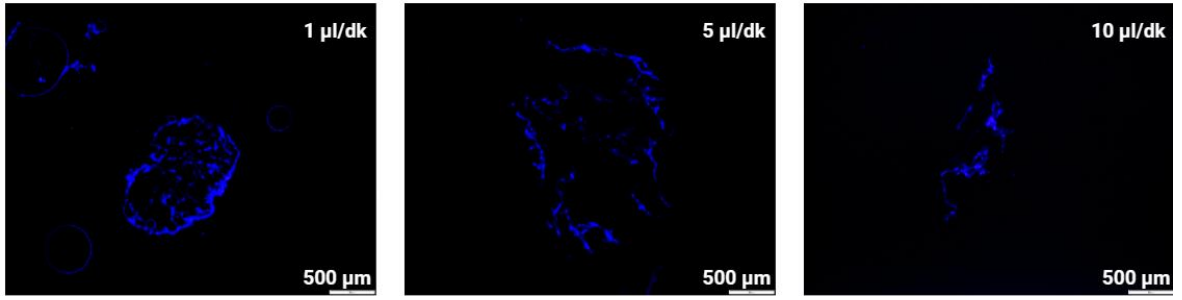
Mikroçipte farklı akış debilerinde ilaç etkinliğini incelemek amacıyla, daha önce doz optimizasyonu yapılmış 500 nM Ribociclib etken maddeli ilaç çözeltisi kullanıldı. Bu çözeltinin mikroçip üzerindeki organoidlere etkisi, sırasıyla 1 μ L/dk, 5 μ L/dk ve 10 μ L/dk akış debilerinde test edildi (Şekil 4.8). Akış işlemi laminar akışlı kabin içerisinde gerçekleştirildi. Her bir debi için

uygulama süresi, ilaç temas süresinin sabit tutulmasını sağlayacak şekilde ayarlandı: 1 $\mu\text{L}/\text{dk}$ debisinde 2,5 saat, 5 $\mu\text{L}/\text{dk}$ debisinde 30 dakika ve 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ debisinde 15 dakika boyunca uygulama yapılarak, farklı akış debilerinde organoidlerin ilaca eşit süreyle maruz kalması sağlandı. Bu işlem sırasında mikroçipler kısa süreyle CO_2 'siz ortamda bulunsun da, uygulama süresi oldukça sınırlıydı ve işlem sonrası %5 CO_2 içeren inkübatöre alındı. Takip eden süreçte, sonuçların hücresel düzeyde değerlendirilmesi amacıyla immüno Floresan (IF) boyama gerçekleştirildi. Bu boyama sırasında Ki-67 belirteci kullanılarak hücre proliferasyonu ve membran bütünlüğü analiz edildi.

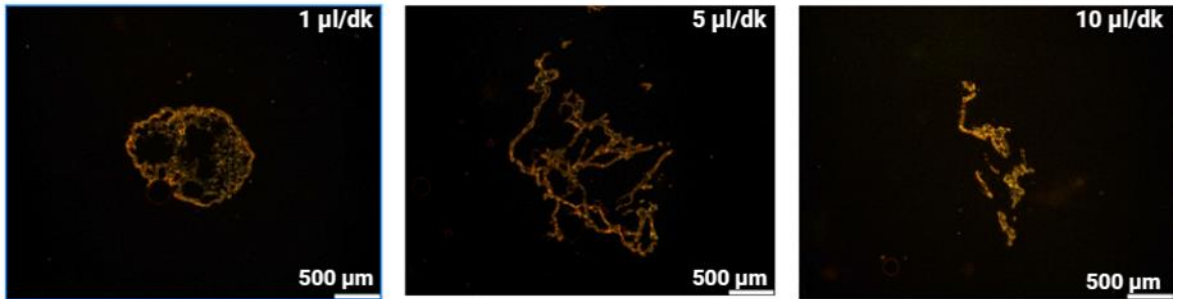


Şekil 4.8. Şırınga pompası ile akış testi gerçekleştirilen çip-üstü-organ platformu.

IF boyaması sırasında DAPI boyası ile hücre çekirdeği boyandı ve histolojisi incelendi (Şekil 4.9). 1 $\mu\text{L}/\text{dk}$ düşük akış debisinde, organoidler küresel ve bütün yapısını korudu. Bu durum, düşük akış debisinde hem histolojik bütünlüğün hem de hücresel canlılığın korunduğunu gösterdi. Ayrıca, organoidlerin histolojik bütünlüğünü koruması ve Ki-67 boyama sonuçlarının tutarlı olması (Şekil 4.10), kısa süreli CO_2 eksikliğinin hücresel düzeyde olumsuz bir etki yaratmadığını destekledi. DAPI sinyalinin yoğun ve belirgin olması, çekirdek bütünlüğünün bozulmadığını ve ilacın hücrelerle daha uzun süre temas etmesi sayesinde oluşan dengeli bir yanıt ile ilişkilendirildi. 5 $\mu\text{L}/\text{dk}$ orta akış debisinde ise organoidler daha gevşek yapıda ancak bütünlüğü tümüyle bozulmadı. Organoid yapısında dallanmalar görüldü. Yapının daha dağılmış görünümü, orta düzeyde kayma gerilmesi etkisine maruz kaldığını düşündürdü.



Şekil 4.9. DAPI boyaması sonucu boyanan nükleusun 500 µm (4x) büyütme altındaki floresan mikroskobu görüntüsü.



Şekil 4.10. Ki-67 belirteci ile boyanan organoidlerin 500 µm (4x) büyütme altındaki floresan mikroskobu görüntüsü.

Kayma gerilmesinin büyüklüğü, *Navier-Stokes* denklemlerinin bir türevidir, akışkan akış hızı ve kanal boyutları kullanılarak hesaplanmıştır. Merna ve ark. (2018) çalışmasına benzer olarak kayma gerilmesi hesaplanmıştır. Bu hesaba göre:

Kayma gerilimi (τ) için kullanılan formül: $\tau = 6\mu Q/bh^2$

- τ : Kayma gerilimi
- μ : Akışkanın viskozitesi
- Q : Hacimsel akış debisi
- b : Kanal genişliği
- h : Kanalın yüksekliği

Hesaplamalarda orta kanal genişliği 3000 µm ve yüksekliği 1000 µm olarak alındı. Akışkan viskozitesi, düşük konsantrasyondaki (500 nM) ilaç çözeltisinin taşıyıcı ortamı olan kültür medyumunun viskozitesine karşılık gelecek şekilde $\mu = 0.001 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ olarak kabul edildi. Bu verilere göre hesaplanan kayma gerilmesi değerleri; 1 µL/dk için yaklaşık 0.033 mPa, 5 µL/dk için 0.167 mPa ve 10 µL/dk için 0.334 mPa olarak belirlendi. 1 µL/dk akış debisi, 0.033 mPa gibi oldukça düşük bir kayma gerilmesi oluşturmuştur. Bu koşul altında ilacın etkileri, kayma gerilmesi gibi mekanik parametrelerden büyük ölçüde bağımsız şekilde değerlendirilmiştir. 5 µL/dk akış debisi oluşan 0.167 mPa kayma gerilmesi ise besin ve oksijen taşınımını artırmasına rağmen, ilacın

organoid dokusu içerisinde daha hızlı geçişine yol açarak maruziyet süresini kısaltmıştır. 10 µL/dk akış debisinde hesaplanan 0.334 mPa'lık kayma gerilmesi, diğer akış debilerine kıyasla daha yüksek bir mekanik etki oluşturmuş ve bu da organoidlerin daha düşük ilaç maruziyetine neden olmuştur.

Yapılan ImageJ analizi sonrasında hücre canlılığı ve yoğunluğu analiz edildi.

Akış Hızı (µL/dk) DAPI Alan Ortalaması (px²) Ki-67 Alan Ortalaması (px²)

1 µL/dk	1109	384
5 µL/dk	835	468
10 µL/dk	769	748

ImageJ analizine göre 1 µL/dk akış debisinde en yüksek nükleer yoğunluk gözlemlendi, bu durum düşük akışta ilacın hücrelerle daha uzun süre temas ederek hücrelerin yapısal bütünlüğünü nispeten koruduğunu gösterdi. Öte yandan, Ki-67 boyama sonuçları, 10 µL/dk akış debisinde en yüksek proliferatif alanı gösterdi. Bu, yüksek akış debisinin ilacın antiproliferatif etkisini azalttığını ve hücrelerin akışa bağlı olarak strese girip proliferatif yanıt geliştirmiş olabileceğini doğruladı. Yüksek akış debisine dair bu çalışmada elde edilen sonuçlar, genel literatürde (Merna ve ark., 2018) kayma gerilmesinin proliferatif yanıtını modüle ettiğine ve hücresel yanıtları değiştirdiğine dair bulgularla uyumludur.

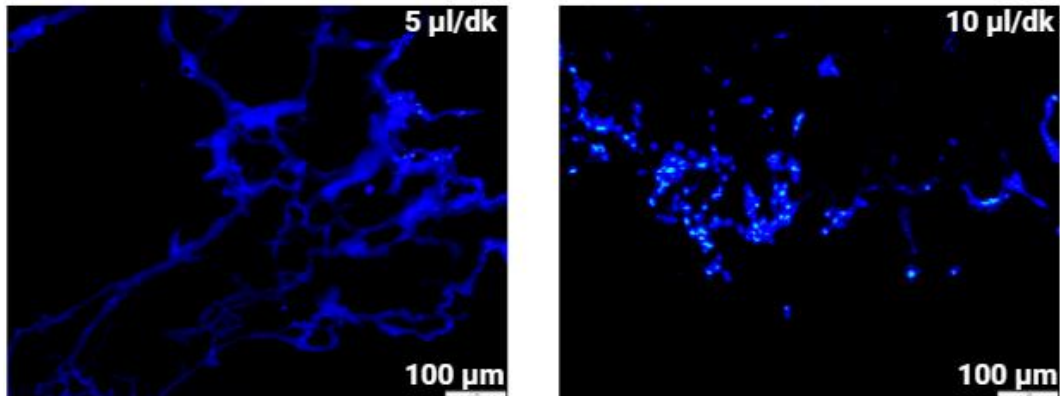
Düşük debi değerinde (1 µL/dk) , ilaç solüsyonunun organoidlerle daha uzun süre temas etmesi, Ki-67 ekspresyonunun azalmasına ve hücre proliferasyonunun baskılanmasına yol açtı ve ilaç etkisinin hücre döngüsünü duraklatıcı bir etki oluşturduğunu düşündürdü. 5 µL/dk akış debisinde ise orta düzey bir kayma gerilmesi oluştu ve bu durum hücresel yanıtı karmaşık hale getirdi. Yani, bazı hücrelerin döngüden çıkarken, diğerlerinin proliferatif aktivitesinin sürdürmesini sağladı. 10 µL/dk yüksek akış debisinde ise artan mekanik gerilme, organoid bütünlüğünün bozulmasına ve hücre içi gerilme yanıtlarının artmasına neden oldu. Düşük Ki-67 ekspresyonu, hücrelerin büyük oranda proliferatif kapasitesini kaybetmesine ve apoptoza yönelmesine yol açtı. Yüksek kayma gerilmesi altında hücre döngüsünün baskılandığı ve canlılığın azaldığı bu bulgularla desteklenmiştir.

4.3.4. Dinamik Ortamın (Akış Olan Durum) Statik Ortam (Akış Olmayan Durum) ile Değerlendirilmesi

Dinamik ortam koşullarının etkilerini değerlendirmek amacıyla, statik ortam kontrol grubu oluşturuldu. Bu grupta, mikroçipteki organoidlere 500 nM Ribociclib içeren ilaç solüsyonu, şırınga

pompası ile uygulanan 5 $\mu\text{L}/\text{dk}$ ve 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ akış debilerine karşılık gelen toplam hacim ve temas süresine denk gelecek şekilde pipet ile manuel olarak uygulandı. Bu sayede, ilaç maruziyet süresi ve dozu dinamik akış gruplarıyla eşitlendi ancak sıvı hareketi olmadan statik ortam sağlandı. Bu karşılaştırmalı analizde 1 $\mu\text{L}/\text{dk}$ akış debisine karşılık gelen kayma gerilmesi değerlendirmeye alınmamıştır; çünkü bu hızda oluşan kayma gerilmesinin, statik koşullardaki durumla arasında büyük bir fark olmadığı düşünülerek anlamlı bir fark yaratmayacağı öngörülmüştür.

Şekil 4.11’de görüldüğü gibi statik koşullarda yapılan DAPI boyama sonuçları, organoidlerin histolojik bütünlüğünü koruduğunu ve hücresel canlılığın sürdüğünü göstermiştir. DAPI boyamasında çekirdeklerin yoğun ve homojen sinyal verdiği, hücrelerin yapısal bütünlüğünün bozulmadığı gözlemlendi. Bu durum, sıvı akışı olmamasına rağmen ilaç etkisinin hücreler üzerinde devam ettiğini ve statik koşulların hücresel gerilmenin azalmasına olanak tanıdığını gösterdi. Statik ortamda ilaç maruziyetinin dinamik akış koşullarına kıyasla hücre canlılığı ve proliferasyonu üzerinde daha az baskılayıcı etkisi olduğu, özellikle yüksek kayma gerilmesinin oluşturduğu mekanik zorlanmanın yokluğunda organoidlerin yapısal ve fonksiyonel bütünlüklerini daha iyi korudukları değerlendirildi.



Şekil 4.11. Pipet yöntemi ile ilaç solüsyonu verilmiş organoidlerin immüno Floresan boyama sonrası 100 μm (20x) büyütme altındaki floresan mikroskop görüntüsü.

Hacme Karşılık Gelen Statik Grup	DAPI Alan Ortalaması (px^2)
5 $\mu\text{L}/\text{dk}$	1185.69
10 $\mu\text{L}/\text{dk}$	1413.55

Organoidlerin maruz kaldığı akış koşullarının etkisini değerlendirmek amacıyla, farklı akış debilerinde uygulanan dinamik akış ile eşdeğer hacim ve sürelerde, sıvı hareketi olmaksızın uygulanan statik ortam koşullarındaki DAPI boyama sonuçları ImageJ analizi ile karşılaştırıldı.

Dinamik akış altında 1 $\mu\text{L}/\text{dk}$ için ortalama DAPI boyama alanı 1109 px^2 , 5 $\mu\text{L}/\text{dk}$ için 835 px^2 , 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ için 769 px^2 olarak hesaplanmıştı. Statik koşullarda ise, 5 ve 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ karşılığı olacak şekilde uygulanan ilaç sonrası alan ortalamaları sırasıyla 1185,69 px^2 ve 1413,55 px^2 olarak bulundu. Bu sonuçlar, dinamik akışın hücre morfolojisi üzerinde küçültücü etkiye sahip olabileceğini ve sıvı hareketinin hücre yapısını etkileyen bir faktör olduğunu göstermiştir. Özellikle 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ 'da bu fark daha belirgin hale gelmiştir. Statik ve dinamik ortamlar arasındaki farklar, ilaç etkinliğinin yanı sıra mikroakışkan sistemlerdeki parametrelerin hücresel tepkiler üzerindeki etkisini de ortaya koymuştur.





5.TARTIŞMA

Çip-üstü-organ sistemi oluştururken dikkat edilmesi gereken pek çok husus vardır. Bunların ilki; doğru mikroçip tasarımını belirlemektir. Çalışmada kullanılan mikroakışkan çipler, organoidlerin tek bir kanala tutunarak kültürlenmesini sağlamak amacıyla üretilmiştir. Orta kanalların yüksekliği yan kanallara göre daha alçaktır. Bu mesafe, matrijele gömülü organoidlerin yüzey gerilimi ile tek bir kanalda bulunması ve diğer iki kanaldan besin ve ilaç girişini sağlanması mümkün olmuştur. Özgün tasarımda yüzey gerilimini avantaj olarak kullanarak akışı yönlendirmek mümkün olmuştur.

Tasarlanan kalıp üretilmiş ve küreme ajanı ile karıştırılan silika jel kalıp içerisine dikkatlice dökülmüştür. Üretim aşamasında yapısal bütünlüğün sağlanması ve herhangi bir kabarcık veya görüntüyü engelleyecek bir düzensizlik olmaması adına titizlikle çalışılmıştır. Oluşturulan PDMS yapısı herhangi bir sızıntı olmamasına dikkat edilerek cam lamele bağlanmış, bu işlem sonucunda organoid ekimi ve mikroskopta görüntüleme imkanı sunan mikroakışkan çip sistemi oluşturulmuştur.

Organoid üretimi sürecinde, MCF-7'den oluşturulan organoidler 15 gün boyunca başarıyla kültüre edilmiştir. Bu süreçte organoidler düzenli olarak gözlemlenmiş ve üç günde bir besin ortamı değiştirilmiştir. Kullanılan besin ortamındaki bileşenler dikkatlice belirlenmiş ve bazıları (HEPES gibi) literatürde bulunan miktardan daha fazla eklenmiştir. Bunun sebebi ortamın hücre yoğunluğunun fazla olması ve pH stabilitesini arttırmaktır (Freshney,2010). Çalışma kapsamında elde edilen veriler, organoidlerin mikroçip içinde 15 gün boyunca kompakt ve düzenli bir yapı geliştirdiğini göstermiştir. Bu yapısal değişim süreci, Pulze ve ark. (2020) tarafından bildirilen zamana bağlı organoid kompaktlaşması ve merkezde hücre canlılığının azalmasıyla uyumluluk göstermektedir.

MCF-7 organoidlerinin mikroakışkan çip üzerinde akış etkinliğini değerlendirmek amacıyla uygulanan ilaç protokolünde, önce optimizasyon deneyi yapılarak uygun ilaç dozunun belirlenmesi istenmiştir. Uygulanan CDK4/6 inhibitörü Ribociclib etken maddeli ilaç solüsyonu, östrojen reseptör pozitif (ER+) meme kanseri türlerinde kullanılan bir ilaçtır. Farklı dozlarda hazırlanan ilaç solüsyonları organoidlere uygulanmış ve 72 saat sonunda WST-8 canlılık testi ile değerlendirilmiştir.

Düşük dozlardaki absorbans değerleri ilacın düşük dozlarda hücre döngüsünü yavaşlattığını ancak hücre ölümüne neden olmadığını göstermiştir. 15.6 nM ve 125 nM'deki absorbans değerleri kontrol grubuyla benzer canlılık göstermiştir. Bunun sebebi hücrelerin CDK6 proteininin aşırı ekspresyonu sonucu hücrenin uyumlu yanıt göstermesiyle ilişkili olabilir (Zhou ve ark., 2021). Daha yüksek dozlarda belirgin canlılık kaybı görülmüştür. 500 nM dozunda hücre canlılığında ciddi bir şekilde azalma olduğu görülmüştür. Lorman- Carbó ve arkadaşlarının sonuçlarından yola

çıkarak bunun sebebinin HER2 ile ilişkili genlerin ve hücre proliferasyonunun baskılanmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. 1000 nM dozunda ise önemli ölçüde daha az hücre çoğalması görülmesine rağmen yine de beklenenin altında kalmıştır. Bu sonuç, MCF-7 hücrelerinin ilaca direnç göstererek CDK4/6 inhibitörlerine karşı daha duyarsız hale geldiğini göstermiştir. Kullanılacak ilaçtan beklenen etki öncelikli olarak hücre döngüsü ve proliferasyonunu durdurması, veya gen ekspresyon profilini değiştirmesidir. 500 nM ilaç dozu literatürde daha önceki çalışmalarda Ribociclib için daha tercih edilen ve optimal doz olarak öne çıkmıştır. Daha düşük dozların hücre canlılığını azalttığı gözlemlense de etki yetersiz bulunmuştur. Daha yüksek dozlarda ise MCF-7'nin aşırı CDK6 proteini eksprese edip tedaviye direnç gösterebileceğinden optimum doz bu çalışma için de 500 nM olarak belirlenmiştir.

İlaç dozu belirlendikten sonra, oluşturulan organoidler mikroçipe eklenmiş ve akış debisinin hücre canlılığı üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla farklı akış hızlarında ilaç solüsyonu mikroçipe uygulanmıştır. Bu uygulama, şırınga pompası (New Era Pump Systems, ABD) kullanılarak çipin giriş kanalından 1 µl/dk, 5 µl/dk ve 10 µl/dk olmak üzere üç farklı akış debisinde ilaç akışı sağlanmış ve 24 saat boyunca sürdürülmüştür. Şırınga pompası kullanmak, geleneksel pipetleme yöntemine göre daha homojen ve kontrollü bir akış sunmuştur ve bu sayede mikroakışkan koşullar daha gerçekçi taklit edilebilmiştir. Yapılan ImageJ analizleri, organoid alanının günlere bağlı olarak arttığını ve morfolojik olarak daha kompakt hale geldiğini nicel olarak ortaya koymuştur. Bu analizler, mikroskopik gözlemlerle uyumlu şekilde, dinamik akış uygulanan gruplarda daha düzgün sınırlara sahip, yapısal olarak yoğun organoid oluşumlarını doğrulamıştır. Öte yandan, statik akış koşullarında kültürlenmiş organoidlerde düzensiz morfoloji ve merkezde daha belirgin hücre ölümü tespit edilmiştir. Bu durum, perfüzyonun yalnızca proliferasyonu değil, aynı zamanda hücre bütünlüğünü ve besin/atık dengesini de etkilediğini göstermektedir.

Çalışmada uygulanan 500 nM Ribociclib çözeltisinin, özellikle 1 µL/dk akış debisinde organoidlerde daha belirgin hücre ölümüne neden olduğu gözlenmiştir. 5 ve 10 µL/dk hızlarda ise canlılık oranlarının artması, ilacın temas süresinin azalmasına bağlanmıştır. Düşük akış debisinde MCF-7 organoidlerinin ilaca daha fazla temas ettiğinden daha etkili olduğu görülmüştür, ancak 24 saatlik bir uygulamada dengeli akışın (1 µL/dk) en optimum seçenek olduğu gözlemlenmiştir.

Tez çalışması, MCF-7 organoidlerinin özel olarak tasarlanmış mikroakışkan sistemle entegre olarak başarılı bir şekilde kültürlenebildiğini ve ilaç testi uygulamalarda başarılı olacağını göstermiştir. Mikroakışkan sistem içerisinde, organoidlerin mikroçevresel koşulları taklit edilerek besin ve ilaç yanıtları değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın kişiselleştirilmiş tıp ve ilaçların meme kanseri türleri üzerindeki moleküler değerlendirmesi için yenilikçi ve gelişmesi gereken bir yaklaşım olduğu açıktır. İlaç optimizasyon çalışmalarında, farklı ilaçların kombine tedavileri alternatif olarak değerlendirilebilir ve farklı zaman aralıklarında organoidlerin ilaca maruz bırakılması sağlanabilir. Farklı akış debilerindeki ilaç test edilirken şırınga pompası tercih

edilmiştir. Bu sayede akış kontrollü ve sürekli sağlanmıştır. Gelecek çalışmalarda daha hassas akış sağlayabilen basınç kontrollü mikroakışkan sistemler kullanılarak akış yanıtları geliştirilebilir. Testler sonucunda yapılan kroyoseksiyon ve IF boyama analizleri organoidlerin histolojik olarak incelenmesini ve protein belirteçleri kullanılarak ilaca verilen apoptotik yanıtı değerlendirmemizi sağlamıştır. Gelecek çalışmalarda organoid canlılığını daha kapsamlı inceleyebilmek adına hücre canlılık boyaları (ör. Live/Dead) kullanılabilir, metabolik yanıtların incelenmesi için MTT, ATP analizi gibi metabolik analizlerin dahil edilmesi önerilmiştir.

Sonuçlar, yüksek akış debilerinin ilaç etkinliğini azaltabileceği veya hücrelerin stres kaynaklı proliferatif yanıt geliştirebileceğini düşündürmektedir. Ancak bu bulguların tam anlamıyla doğrulanabilmesi için ileri moleküler analizlerin yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada geliştirilen çip-üstü-organ sistemi MCF-7 organoidlerindeki ilaç ve akış yanıtlarını değerlendirmiş ve kişiselleştirilmiş tıpta kullanılmasının nasıl avantajlar sağlayabileceğini göstermiştir. Farklı organoid türleri ve farklı tasarımdaki mikroakışkan sistemler kullanılarak gelecekte tedavi çeşitliliğinin artırılmasını sağlayabilir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

- a) Bu tez çalışmasında, MCF-7 hücre hattından elde edilen organoidlerin çip-üstü-organ platformunda başarıyla kültürlenebildiği ve farklı akış debilerinde Ribociclib ilacı uygulaması sonrası canlılık ve proliferasyonun değerlendirilebildiği gösterilmiştir. Organoidlerin zamana bağlı olarak daha kompakt hale geldiği ve merkez bölgelerinde canlılık kaybı yaşandığı gözlemlenmiştir.
- b) Çip-üstü-organ platformu için kalıp, katı cisim modelleme programı ile hazırlanmış ve 3 boyutlu yazıcı ile üretilmiştir. PDMS jel kullanılarak şeffaf ve biyoyumlu mikroakışkan çipler üretilmiştir.
- c) Organoidler bu çip-üstü-organ sisteminde kültürlenmiş, besin ve ilaç iletimi sağlanarak, farklı akış debilerindeki ilaç yanıtları histolojik ve moleküler düzeyde incelenmiştir.
- d) Organoidler çip-üstü-organ içerisinde bir gece bekletilmiş ve daha sonra yapılan H&E boyaması ile, organoidlerin histolojisini ve büyük ölçüde koruduğu ve mikroakışkan çipe adapte olup hücrelerarası iletişimi sağlayabildiği görülmüştür.
- e) Ribociclib etken maddeli ilaç solüsyonu, aynı dozda olmak üzere 1, 5 ve 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ olmak üzere üç farklı akış debisinde şırınga pompası ile mikroçip içerisine verilmiş ve her koşulda organoidler ilaca maruz bırakılmıştır.
- f) Yapılan akış ve ilaç testleri sonucunda farklı akış debilerinde ilaca maruz kalmanın organoidlerin hücre canlılığına etkisi olduğu doğrulanmıştır. Ki-67 belirteci kullanılarak hücre proliferasyonu ve apoptotik etkiler incelenmiş ve ribociclib etken maddeli ilacın MCF-7 hücre hattından üretilen organoidlere etkisi analiz edilmiştir. Düşük akış debisinde (1 $\mu\text{L}/\text{dk}$) uygulanan ilaç, organoid morfolojisinin ve nükleus bütünlüğün korunmasını sağlamış; yoğun DAPI sinyali ve düşük Ki-67 ekspresyonu ile hücre canlılığının yüksek, proliferasyonun ise baskılanmış olduğunu göstermiştir. Orta (5 $\mu\text{L}/\text{dk}$) ve yüksek (10 $\mu\text{L}/\text{dk}$) akış debilerinde ise kayma gerilmesi etkisiyle yapı bütünlüğü bozulmuş, DAPI sinyali azalmış ve Ki-67 ekspresyonu belirgin şekilde düşmüştür. Bu durum, artan mekanik gerilmenin hücre proliferasyonunu baskılayarak canlılık kaybına yol açtığını ortaya koymuştur.
- g) Organoidlerin çip-üstü-organ sisteminde uzun süreli kültür ve canlılık sağlayabildiği, tümör mikroçevresi koşullarının başarıyla taklit edilebildiği görülmüş ve bu çalışmanın kişiselleştirilmiş tıp, ilaç yanıtlarının moleküler düzeyde analizi, kanser biyolojisi alanlarında kullanılabileceği ve geliştirilebileceği doğrulanmıştır.

- h) Çip-üstü-organ sisteminin düşük maliyetli ve tekrarlanabilir olması yüksek verimli bir platform olduğunu ve klinik öncesi araştırmalarda alternatif olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

6.2. Öneriler

- a. Çip-üstü-organ platformu ile farklı moleküler alt tipleri temsil eden diğer meme kanseri hücre hatlarıyla da test edilerek karşılaştırmalı ilaç çalışmaları yapılabilir.
- b. Farklı ilaçlar kombine olarak kullanılarak ilaç tedavisinin sınırlılığı azaltılabilir. Farklı analiz yöntemleri, hücre döngüsü ve canlılığının kantitatif olarak daha kapsamlı değerlendirilebilmesi için çalışmaya dahil edilebilir.
- c. Birden fazla organoidin aynı mikroakışkan sistemde kültürlenmesi sağlanarak, organoidlerin sadece ilaç değil birbirleriyle etkileşimleri de incelenebilir.
- d. Organoidlerin kültürde daha uzun süre tutulduğu deneylerde, ilaçların zamana bağlı etkileri daha iyi anlaşılabilir.
- e. Farklı çip-üstü-organ platformları kullanılarak organoidlerin ilaç etkileşimleri optimize edilebilir.
- f. Hasta kaynaklı organoidlerle çalışarak bu sistem, bireye özel tedavi yaklaşımlarını test etmek için kullanılabilir.
- g. Sadece Ki-67 değil, farklı boyamalar veya gen ve protein düzeyinde analizler eklenerek ilaç etkileri daha kapsamlı değerlendirilebilir.
- h. Mikroçip içindeki akış koşullarının (örneğin kayma gerilmesi) hücre davranışı üzerindeki etkileri detaylı olarak incelenebilir.
- i. Kayma gerilmesi değerleri teorik hesaplamalara dayanmaktadır. Gelecek çalışmalarda mikro-PIV ile akış profili görüntülenmelidir.

KAYNAKLAR

- Aboulkheyr Es, H., Montazeri, L., Aref, A. R., Vosough, M. ve Baharvand, H. (2018). Personalized Cancer Medicine: An Organoid Approach. *Trends in Biotechnology*, 36(4), 358–371. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.12.005>
- Akyolcu, N., Özhanlı, Y. ve Kandemir, D. (2019). Current Developments in Breast Cancer. *Journal of Health Sciences and Professions*, 6(3), 583–594.
- ATCC. MCF-7 (HTB-22) human breast adenocarcinoma cell line. American Type Culture Collection. (Accessed: 9 June 2025). <https://www.atcc.org/products/ccl-22>
- Bernabeu, M., Howard, C., Zheng, Y., Smith, J.D. (2021). Bioengineered 3D microvessels for investigating Plasmodium falciparum pathogenesis. *Trends in Parasitology*, 37(5), 401–413.
- Berthier, E., Young, E. W. ve Beebe, D. (2012). Engineers are from PDMS-land, Biologists are from Polystyrenia. *Lab on a Chip*, 12(7), 1224–1237.
- Bi, W., Cai, S., Lei, T., Wang, L. (2023). Implementation of blood-brain barrier on microfluidic chip: Recent advance and future prospects. *Ageing Research Reviews*, 87, 101921. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.101921>
- Bischel, L. L., Lee, S. H. ve Beebe, D. J. (2012). A practical method for patterning lumens through ECM hydrogels via viscous finger patterning. *Journal of Laboratory Automation*, 17(2), 96–103. <https://doi.org/10.1177/2211068211426694>
- Boo, L., Ho, W. Y., Ali, N. M., Yeap, S. K., Ky, H., Chan, K. G., Yin, W. F., Satharasinghe, D. A., Liew, W. C., Tan, S. W., Ong, H. K. ve Cheong, S. K. (2016). MiRNA transcriptome profiling of spheroid-enriched cells with cancer stem cell properties in human breast MCF-7 cell line. *International Journal of Biological Sciences*, 12(2), 169–181. <https://doi.org/10.7150/ijbs.14093>
- Broutier, L., Mastrogianni, G., Verstegen, M. M., Francies, H. E., Gavarró, L. M., Bradshaw, C. R., Allen, G. E., Arnes-Benito, R., Sidorova, O., Gaspersz, M. P., Georgakopoulos, N., Koo, B. K., Dietmann, S., Davies, S. E., Praseedom, R. K., Lieshout, R., IJzermans, J. N. M., Wigmore, S. J., Saeb-Parsy, K., Garnett, M. J., van der Laan, L. J. ve Huch, M. (2017). Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening. *Nature Medicine*, 23(12), 1424–1435. <https://doi.org/10.1038/nm.4438>
- Campaner, E., Zannini, A., Santorsola, M., Bonazza, D., Bottin, C., Cancila, V., Tripodo, C., Bortul, M., Zanconati, F., Schoeftner, S. ve Del Sal, G. (2020). Breast Cancer Organoids Model Patient-Specific Response to Drug Treatment. *Cancers*, 12(12), 3869. <https://doi.org/10.3390/cancers12123869>

- Carvalho, E., Canberk, S., Schmitt, F. ve Vale, N. (2025). Molecular Subtypes and Mechanisms of Breast Cancer: Precision Medicine Approaches for Targeted Therapies. *Cancers*, 17(7), 1102.
- Chauhdari, T., Zaidi, S. A., Su, J., et al. (2025). Organoids meet microfluidics: recent advancements, challenges, and future of organoids-on-chip. *In Vitro Models*, 4(1), 71–88.
- Chen, C., Townsend, A. D., Hayter, E. A., Birk, H. M., Sell, S. A., & Martin, R. S. (2018). Insert-based microfluidics for 3D cell culture with analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(12), 3025–3035.
- Chen, Y., Zhang, J., Zhang, B., Lee, H.K., Xie, S., Shen, W., Chen, X., You, M., Shen, C., Xia, B., Xing, H. (2025). Optimizing drug sensitivity assays in patient-derived tumor organoids: A comparison of IC50 estimation methods and experimental parameters. *Biology Methods and Protocols*, 10(1), bpaf012.
- Chung, H., Kumar, H., Meadows, K., Park, S., Shin, J., Chun, J. ve Kim, K. (2024). 3D bioprinting of human iPSC Derived kidney organoids using a low cost, high throughput customizable 3D bioprinting system. *Bioprinting*, 38, e00337.
- Clevers H. (2016). Modeling Development and Disease with Organoids. *Cell*, 165(7), 1586–1597.
- Comşa, Ş., Cîmpean, A.M., Raica, M. (2015). The story of MCF-7 breast cancer cell line: 40 years of experience in research. *Anticancer Research*, 35(6), 3147–3154.
- De Beuckeleer, S., Vanhooydonck, A., Van Den Daele, J., Van De Looverbosch, T., Asselbergh, B., Kim, H., Campsteijn, C., Ponsaerts, P., Watts, R. ve De Vos, W. H. (2025). An agarose fluidic chip for high throughput in toto organoid imaging. *Lab on a Chip*, 25(2), 235–252. <https://doi.org/10.1039/d4lc00459k>
- Dilmen, E., Orhon, I., Jansen, J. ve Hoenderop, J. G. J. (2024). Advancements in kidney organoids and tubuloids to study (dys)function. *Trends in Cell Biology*, 34(4), 299–311. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2023.09.005>
- DiMasi, J. A., Feldman, L., Seckler, A. ve Wilson, A. (2010). Trends in risks associated with new drug development: Success rates for investigational drugs. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 87(3), 272–277. <https://doi.org/10.1038/clpt.2009.295>
- Dornhof, J., Kieninger, J., Muralidharan, H., Maurer, J., Urban, G. A. ve Weltin, A. (2022). Microfluidic organ on chip system for multi analyte monitoring of metabolites in 3D cell cultures. *Lab on a Chip*, 22(2), 225–239. <https://doi.org/10.1039/d1lc00689d>
- Esch, E. W., Bahinski, A. ve Huh, D. (2015). Organs on chips at the frontiers of drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14, 248–260.
- Fatehullah, A., Tan, S. ve Barker, N. (2016). Organoids as an in vitro model of human development and disease. *Nature Cell Biology*, 18, 246–254.

- Fanti, V., Marzeddu, R., Piredda, G., Randaccio, P. (2005). Design and test of data acquisition systems for the Medipix2 chip based on PC standard interfaces. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A*, 546(1-2), 286–290. <https://doi.org/10.1016/j.nima.2005.03.030>
- Fengler, S., Kurkowsky, B., Kaushalya, S.K., Roth, W., Fava, E., Denner, P. (2022). Human iPSC-derived brain endothelial microvessels in a multi-well format enable permeability screens of anti-inflammatory drugs. *Biomaterials*, 286, 121525.
- Fouad, Y. A. ve Aanei, C. (2017). Revisiting the hallmarks of cancer. *American Journal of Cancer Research*, 7(5), 1016–1036.
- Freshney, R. I. (2010). *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications* (6th ed.). Wiley-Blackwell.
- Gómez, M., Lazzari, M. (2012). PFPE-based materials for the fabrication of micro- and nano-optical components. *Microelectronic Engineering*, 97, 208–211.
- Greaves, M., & Maley, C. C. (2012). Clonal evolution in cancer. *Nature*, 481(7381), 306–313.
- He, L., Kniss, A., San-Miguel, A., Rouse, T., Kemp, M.L., Lu, H. (2015). An automated programmable platform enabling multiplex dynamic stimuli delivery and cellular response monitoring for high-throughput suspension single-cell signaling studies. *Lab Chip*, 15(6), 1497–1507.
- Hockney, S., Parker, J., Turner, J.E., Todd, X., Todryk, S., Gieling, R.G., Hilgen, G., Simoes, D.C.M., Pal, D. (2023). Next generation organoid engineering to replace animals in cancer drug testing. *Biochemical Pharmacology*, 213, 115586.
- Hoarau Véhot, J., Rafii, A., Touboul, C. ve Pasquier, J. (2018). Halfway between 2D and Animal Models: Are 3D Cultures the Ideal Tool to Study Cancer Microenvironment Interactions? *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 181.
- Hortobagyi, G. N., Stemmer, S. M., Burris, H. A., Yap, Y. S., Sonke, G. S., Paluch Shimon, S. ve Slamon, D. J. (2016). Ribociclib as first line therapy for HR positive, advanced breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 375(18), 1738–1748. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1609709>
- Huang, W. Y., Liu, C. A., Fan, R. S., Lin, Z. D., Wang, K. ve Lee, G. B. (2017). Automatic optimization of drug cocktails on an integrated microfluidic system. *Biomechanics*, 11(3), 034109. <https://doi.org/10.1063/1.4983614>
- Katoh, K. (2023). Effects of Mechanical Stress on Endothelial Cells In Situ and In Vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22), 16518. <https://doi.org/10.3390/ijms242216518>

- Kefallinou, D., Grigoriou, M., Boumpas, D. T., Gogolides, E. ve Tserepi, A. (2020). Fabrication of a 3D microfluidic cell culture device for bone marrow on a chip. *Micro and Nano Engineering*, 9, 100075. <https://doi.org/10.1016/j.mne.2020.100075>
- Lancaster, M.A., Knoblich, J.A. (2014). Generation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells. *Nature Protocols*, 9(10), 2329–2340.
- Le, T., Cui, W., Zhang, B., Fonseca, P., Zhao, Q., Zhang, P., Xu, B., Zhang, Q., Li, Z., Seashore-Ludlow, B., Yang, Y., Si, L., Lundqvist, A. (2024). Patient-derived organoids in precision cancer medicine. *Med*, 5(11), 1351–1377.
- Li, M.W., Huynh, B.H., Hulvey, M.K., Lunte, S.M., Martin, R.S. (2006). Design and characterization of poly(dimethylsiloxane)-based valves for interfacing continuous-flow sampling to microchip electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 78(4), 1042–1051. <https://doi.org/10.1021/ac051592c>
- Li, Y.W., Dai, L.J., Wu, X.R., Zhao, S., Xu, Y.Z., Jin, X., Xiao, Y., Wang, Y., Lin, C.J., Zhou, Y.F., Fu, T., Yang, W.T., Li, M., Lv, H., Chen, S., Grigoriadis, A., Jiang, Y.Z., Ma, D., Shao, Z.M. (2024). Molecular characterization and classification of HER2-positive breast cancer inform tailored therapeutic strategies. *Cancer Research*, 84(21), 3669–3683.
- Linville, R.M., DeStefano, J.G., Sklar, M.B., Xu, Z., Farrell, A.M., Bogorad, M.I., Chu, C., Walczak, P., Cheng, L., Mahairaki, V., Whartenby, K.A., Calabresi, P.A., Searson, P.C. (2019). Human iPSC-derived blood-brain barrier microvessels: Validation of barrier function and endothelial cell behavior. *Biomaterials*, 190–191, 24–37.
- Liu, Y., Gan, Y., AiErken, N., Chen, W., Zhang, S., Ouyang, J., Zeng, L., Tang, D. (2022). Combining organoid models with next-generation sequencing to reveal tumor heterogeneity and predict therapeutic response in breast cancer. *Journal of Oncology*, 2022, 9390912.
- Ma, J., Siegel, R.L., Jacobs, E.J., Islami, F., Jemal, A., Miller, K.D. (2025). Cancer statistics, 2025. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 75(1), 10–45.
- Maithili, S., Popel, A. (2001). A two-phase model for flow of blood in narrow tubes with increased effective viscosity near the wall., 415, 28–40.
- Maschmeyer, I., Lorenz, A.K., Schimek, K., Hasenberg, T., Ramme, A.P., Hübner, J., Lindner, M., Drewell, C., Bauer, S., Thomas, A., Sambo, N.S., Sonntag, F., Lauster, R., Marx, U. (2015). A four-organ-chip for interconnected long-term co-culture of human intestine, liver, skin and kidney equivalents. *Lab on a Chip*, 15(12), 2688–2699.
- Menezes, G.L.G., Knuttel, F.M., Stehouwer, B.L., Pijnappel, R.M., van den Bosch, M.A.A.J. (2014). Magnetic resonance imaging in breast cancer: A literature review and future perspectives. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(2), 61–70.

- Merna, N., Wong, A.K., Barahona, V., Llanos, P., Kunar, B., Palikuqi, B., Ginsberg, M., Rafii, S., Rabbany, S.Y. (2018). Laminar shear stress modulates endothelial luminal surface stiffness in a tissue-specific manner. *Microcirculation*, 25(3), e12455. <https://doi.org/10.1111/micc.12455>
- Miller, P.G., Chen, C.Y., Wang, Y.I., Gao, E., Shuler, M.L. (2020). Multiorgan microfluidic platform with breathable lung chamber for inhalation or intravenous drug screening and development. *Biotechnology and Bioengineering*, 117(2), 486–497. <https://doi.org/10.1002/bit.27188>
- Nascimento, R.G., Otoni, K.M. (2020). Histological and molecular classification of breast cancer: What do we know? *Mastology*, 30, 1–8.
- Nikolaev, M., Mitrofanova, O., Broguiere, N., et al. (2020). Homeostatic mini-intestines through scaffold-guided organoid morphogenesis. *Nature*, 585, 574–578. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2724-8>
- Nounou, M.I., ElAmrawy, F., Ahmed, N., et al. (2015). Breast cancer: Conventional diagnosis and treatment modalities and recent patents and technologies. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research*, 9, BCBCR-S29420.
- Novak, R.D.M., Calamari, E., Ng, C.F., Choe, Y., Clauson, S.L., Nestor, B.A., Puerta, J., Fleming, R., Firoozinezhad, S.J., Ingber, D.E. (2018). Scalable fabrication of stretchable, dual channel, microfluidic organ chips. *Journal of Visualized Experiments*, Article 58151. <https://doi.org/10.3791/58151>
- Orrantia-Borunda, E., Anchondo-Nuñez, P., Acuña-Aguilar, L.E., Gómez-Valles, F.O., Ramírez-Valdespino, C.A. (2022). Subtypes of breast cancer. In: Mayrovitz, H.N. (Ed.), *Breast Cancer* (Chapter 3), Exon Publications.
- Pan, B., Li, X., Zhao, D., Li, N., Wang, K., Li, M., Zhao, Z. (2021). Optimizing individualized treatment strategy based on breast cancer organoid model. *Clinical and Translational Medicine*, 11(3), e380.
- Papamichail, L., Koch, L.S., Veerman, D., Broersen, K., van der Meer, A.D. (2025). Organoids-on-a-chip: Microfluidic technology enables culture of organoids with enhanced tissue function and potential for disease modeling. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 13, 1515340.
- Park, S.E., Georgescu, A., Huh, D. (2019). Organoids-on-a-chip. *Science*, 364(6444), 960–965.
- Patrino, N., McLachlan, J.M., Faria, S.N., Chan, J., Norton, P.R. (2007). Surface acoustic wave microfluidic pump. *Lab on a Chip*, 7(12), 1813–1818.
- Pavlidis, N., Pentheroudakis, G. (2005). The pregnant mother with breast cancer: Diagnostic and therapeutic management. *Cancer Treatment Reviews*, 31(6), 439–447.

- Penson, R.T., Valencia, R.V., Cibula, D., Colombo, N., Leath, C.A. 3rd, Bidziński, M., Kim, J.W., Nam, J.H., Madry, R., Hernández, C., et al. (2020). Olaparib versus nonplatinum chemotherapy in patients with platinum-sensitive relapsed ovarian cancer and a germline BRCA1/2 mutation (SOLO3): A randomized phase III trial. *Journal of Clinical Oncology*, 38(11), 1164–1174.
- Petrauskas, V., Damaseviciute, R., Gulla, A. (2025). Pancreatic 3D organoids and microfluidic systems—applicability and utilization in surgery: A literature review. *Medicina*, 61(4), 623.
- Price, J.E. (1990). The biology of metastatic breast cancer. *Cancer*, 66(14 Suppl), 1313–1320.
- Psilopatis, I., Mantzari, A., Vrettou, K., Theocharis, S. (2023). The role of patient-derived organoids in triple-negative breast cancer drug screening. *Biomedicines*, 11(3), 773. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030773>
- Pulze, L., Congiu, T., Brevini, T.A.L., Grimaldi, A., Tettamanti, G., D’Antona, P., Baranzini, N., Acquati, F., Ferraro, F., de Eguileor, M. (2020). MCF7 spheroid development: New insight about spatio/temporal arrangements of TNTs, amyloid fibrils, cell connections, and cellular bridges. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5400. <https://doi.org/10.3390/ijms21155400>
- Qian, Z., Wang, Z., Zhu, K., Yang, K., Wu, L., Zong, S., Wang, Z. (2024). A SERS-assisted 3D organotypic microfluidic chip for in-situ visualization and monitoring breast cancer extravasation process. *Biosensors and Bioelectronics*, 242, 115799.
- Reeves, R.A., Kaufman, T. (2025). Mammography. In: StatPearls [Internet], StatPearls Publishing.
- Riss, T.L., Moravec, R.A., Niles, A.L., Duellman, S., Benink, H.A., Worzella, T.J., Minor, L. (2016). Assay Guidance Manual. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.
- Rodríguez, C. F., Guzmán Sastoque, P., Gantiva Diaz, M., Gómez, S. C., Quezada, V., Muñoz Camargo, C., Osma, J. F., Reyes, L. H. ve Cruz, J. C. (2023). Low cost inertial microfluidic device for microparticle separation: A laser ablated PMMA lab on a chip approach without a cleanroom. *HardwareX*, 16, e00493. <https://doi.org/10.1016/j.ohx.2023.e00493>
- Samimi, H., Sohi, A.N., Irani, S. (2021). Alginate-based 3D cell culture technique to evaluate the half-maximal inhibitory concentration: An in vitro model of anticancer drug study for anaplastic thyroid carcinoma. *Thyroid Res*, 14(27), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13044-021-00118-w>
- Sarno, F., Dell’aversana, C., Cappetta, D., Megchelenbrink, W.L., Obidiro, O., Battogtokh, G., Akala, E.O. (2023). Triple negative breast cancer treatment options and limitations: Future outlook. *Pharmaceutics*, 15(1796), 1–20.

- Seidel, G., Algermissen, C., Christoph, A., Katzer, T., Kaps, M. (2000). Visualization of brain perfusion with harmonic gray scale and power Doppler technology: An animal pilot study. *Stroke*, 31(7), 1728–1734.
- Shen, Q., Zhou, Y.-h., Zhou, Y.-q. (2024). A prospects tool in virus research: Analyzing the applications of organoids in virus studies. *Acta Tropica*, 254, 107182. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107182>
- Sigma-Aldrich. (n.d.). Cell proliferation reagent WST-1. Product No. 11644807001.
- Sigma-Aldrich. (n.d.). Immunofluorescence staining protocol. Retrieved May 29, 2025.
- Singh, D., Mathur, A., Arora, S., Roy, S., Mahindroo, N. (2022). Journey of organ on a chip technology and its role in future healthcare scenario. *Applied Surface Science Advances*, 9, 100246. <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2022.100246>
- Slamon, D., Eiermann, W., Robert, N., Pienkowski, T., Martin, M., Press, M., et al. (2011). Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 365(14), 1273–1283.
- Smabers, L.P., Wensink, E., Verissimo, C.S., et al. (2024). Organoids as a biomarker for personalized treatment in metastatic colorectal cancer: Drug screen optimization and correlation with patient response. *J Exp Clin Cancer Res*, 43(61), 1–17.
- Qian, Z., Wang, Z., Zhu, K., Yang, K., Wu, L., Zong, S., Wang, Z., 2024, A SERS-assisted 3D organotypic microfluidic chip for in-situ visualization and monitoring breast cancer extravasation process, *Biosensors and Bioelectronics*, 242, 115799.
- Linville, R.M., DeStefano, J.G., Sklar, M.B., Xu, Z., Farrell, A.M., Bogorad, M.I., Chu, C., Walczak, P., Cheng, L., Mahairaki, V., Whartenby, K.A., Calabresi, P.A., Searson, P.C., 2019, Human iPSC-derived blood-brain barrier microvessels: Validation of barrier function and endothelial cell behavior, *Biomaterials*, 190–191, 24-37.
- Reeves, R.A., Kaufman, T., 2025, Mammography, In: StatPearls [Internet], StatPearls Publishing.
- Riss, T.L., Moravec, R.A., Niles, A.L., Duellman, S., Benink, H.A., Worzella, T.J., Minor, L., 2016, Assay Guidance Manual, Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.
- Riss, T.L., et al., 2016, Cell viability assays, In: Sittampalam, G.S., et al. (eds.), Assay Guidance Manual, Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.
- Samimi, H., Sohi, A.N., Irani, S., 2021, Alginate-based 3D cell culture technique to evaluate the half-maximal inhibitory concentration: An in vitro model of anticancer drug study for anaplastic thyroid carcinoma, *Thyroid Res*, 14(27), 1-12, <https://doi.org/10.1186/s13044-021-00118-w>.

- Srivastava, S.K., Foo, G.W., Aggarwal, N., Chang, M.W., 2024, Organ-on-chip technology: Opportunities and challenges, *Biotechnology Notes*, 5, 8-12, <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2024.01.001>.
- Sarno, F., Dell'avversana, C., Cappetta, D., Megchelenbrink, W.L., Obidiro, O., Battogtokh, G., Akala, E.O., 2023, Triple negative breast cancer treatment options and limitations: Future outlook, *Pharmaceutics*, 15(1796), 1-20.
- Seidel, G., Algermissen, C., Christoph, A., Katzer, T., Kaps, M., 2000, Visualization of brain perfusion with harmonic gray scale and power Doppler technology: An animal pilot study, *Stroke*, 31(7), 1728-1734.
- Sigma-Aldrich, n.d., Cell proliferation reagent WST-1, Product No. 11644807001.
- Sigma-Aldrich, n.d., Immunofluorescence staining protocol, Retrieved May 29, 2025.
- Singh, D., Mathur, A., Arora, S., Roy, S., Mahindroo, N., 2022, Journey of organ on a chip technology and its role in future healthcare scenario, *Applied Surface Science Advances*, 9, 100246, <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2022.100246>.
- Slamon, D., Eiermann, W., Robert, N., Pienkowski, T., Martin, M., Press, M., et al., 2011, Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer, *New England Journal of Medicine*, 365(14), 1273-1283.
- Smabers, L.P., Wensink, E., Verissimo, C.S., et al., 2024, Organoids as a biomarker for personalized treatment in metastatic colorectal cancer: Drug screen optimization and correlation with patient response, *J Exp Clin Cancer Res*, 43(61), 1-17.
- Sonntag, F., Schilling, N., Mader, K., Gruchow, M., Klotzbach, U., Lindner, G., Horland, R., Wagner, I., Lauster, R., Howitz, S., Hoffmann, S. ve Marx, U. (2010). Design and prototyping of a chip based multi micro organoid culture system for substance testing, predictive to human (substance) exposure. *Journal of Biotechnology*, 148(1), 70–75.
- Song, J. W. ve Munn, L. L. (2011). Fluid forces control endothelial sprouting. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(37), 15342–15347.
- Srivastava, S.K., Foo, G.W., Aggarwal, N., Chang, M.W. (2024). Organ-on-chip technology: Opportunities and challenges. *Biotechnology Notes*, 5, 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2024.01.001>
- Sweeney, E.E., McDaniel, R.E., Maximov, P.Y., Fan, P., Craig, V. (2013). Models and mechanisms of acquired antihormone resistance in breast cancer: Significant clinical progress despite limitations. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 9, 143–163.
- Taverna, J. A., Hung, C. N., Williams, M., Williams, R., Chen, M., Kamali, S., Sambandam, V., Chiu, C. H. L., Osmulski, P. A., Gaczynska, M. E., DeArmond, D. T., Gaspard, C., Mancini, M., Kusi, M., Pandya, A. N., Song, L., Jin, L. ve Schiavini, P. (2024). Ex

- vivo drug testing of patient derived lung organoids to predict treatment responses for personalized medicine. *Lung Cancer*, 190, 107533. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2024.107533>
- Tsai, Y.C., Ozaki, H., Morikawa, A., Shiraiwa, K., Pin, A.P., Salem, A.G., Phommahasay, K.A., Sugita, B.K., Vu, C.H., Hammad, S.M., Kamei, K.I., Watanabe, M. (2025). Proof of concept for brain organoid-on-a-chip to create multiple domains in forebrain organoids. *RSC Advances*, 15(5), 3749–3755.
- Vargas, R., Egurbide-Sifre, A., Medina, L. (2021). Organ-on-a-chip systems for new drugs development. *ADMET DMPK*, 9(2), 111–141. <https://doi.org/10.5599/admet.942>
- Vinci, M., Gowan, S., Boxall, F., Patterson, L., Zimmermann, M., Court, W., Lomas, C., Mendiola, M., Hardisson, D., Eccles, S.A. (2012). Advances in establishment and analysis of three-dimensional tumor spheroid-based functional assays for target validation and drug evaluation. *BMC Biology*, 10(29), 1–17.
- Vogelstein, B., Kinzler, K.W. (2004). Cancer genes and the pathways they control. *Nature Medicine*, 10(8), 789–799.
- Wang, M., Roman, G.T., Perry, M.L., Kennedy, R.T. (2009). Microfluidic chip for high efficiency electrophoretic analysis of segmented flow from a microdialysis probe and in vivo chemical monitoring. *Analytical Chemistry*, 81(21), 9072–9078. <https://doi.org/10.1021/ac901731v>
- Wang, Y., Wang, L., Zhu, Y., Qin, J. (2018). Human brain organoid-on-a-chip to model prenatal nicotine exposure. *Lab on a Chip*, 18(6), 851–860.
- Watanabe, N., Santostefano, K., Yachnis, A., et al. (2017). A pathologist's perspective on induced pluripotent stem cells. *Lab Investigation*, 97(9), 1126–1132. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2017.81>
- World Health Organization (WHO). (2025). Cancer. World Health Organization.
- Wu, H., Wang, W., Zhang, Y., Chen, Y., Shan, C., Li, J., Jia, Y., Li, C., Du, C., Cai, Y., Zhang, Y., Zhang, S., Wu, F. (2024). Establishment of patient-derived organoids for guiding personalized therapies in breast cancer patients. *International Journal of Cancer*.
- Yadhuraj, S.R., Gandla, S.B., Omprakash, S.S., Sudarshan, B.G., Prasanna Kumar, S.C. (2018). Design and development of micro-channel using PDMS for biomedical applications. *Materials Today: Proceedings*, 5(10 Pt 1), 21392–21397. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2018.06.545>
- Yoon, S., You, D.K., Jeong, U., Lee, M., Kim, E., Jeon, T.J., Kim, S.M. (2024). Microfluidics in high-throughput drug screening: Organ-on-a-chip and C. elegans-based innovations. *Biosensors*, 14(1), 55. <https://doi.org/10.3390/bios14010055>

- Yosun, S. P., Bakırcı, E., & Feinberg, A. W. (2025). Engineering the 3D architecture of organoids. *Stem Cell Reports*, 20(1), 102379. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2024.11.009>
- Zhao, H. (2021). The prognosis of invasive ductal carcinoma, lobular carcinoma and mixed ductal and lobular carcinoma according to molecular subtypes of the breast. *Breast Cancer*, 28, 187–195.



ÖZGEÇMİŞ

Ece KOCAMAZ, eğitim hayatına Adana’da başlamış ve ilk-orta öğrenimini burada tamamlamıştır. 2018 yılında Mersin Mehmet Adnan Özçelik Anadolu Lisesi’nden mezun olduktan sonra, 2022 yılında Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik (Türkçe) bölümünden mezun olmuştur. Ocak 2023’te Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doku Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başlamıştır.







EKLER

A. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Madde, Sarf Malzemesi ve Cihaz Listeleri

1. Kimyasal Madde Listesi

- | | |
|---|---|
| 1. A83-01 (500 nM) | 2. Hemotoksilen |
| 3. Advanced DMEM/F12 | 4. Hepes |
| 5. B27 supplement (1X) | 6. Kollajenaz Tip I (4 mg/ml) |
| 7. Ca ²⁺ /Mg ²⁺ içermeyen PBS | 8. Ksilen |
| 9. DAPI | 10. L-glutamin 100X |
| 11. Dimetil sülfoksit (DMSO) | 12. Matrigel |
| 13. DMEM-F12 | 14. N-Asetil L-sistein (1.25 mM) |
| 15. DMEM-Low Glucose (DMEM-LG) | 16. Neuregulin 1 (5 nM) |
| 17. Eozin | 18. Nikotinamid (5 mM) |
| 19. Epitel Büyüme Faktörü (EGF) (5 ng/ml) | 20. Noggin (100 ng/ml) |
| 21. Ethanol | 22. PDMS (Polidimetilsiloksan, Sylgard 184) |
| 23. Eter (dietil eter, Et ₂ O) | 24. Penisilin-Streptomisin (%5) |
| 25. Fetal sığır serumu (%10) (FBS) | 26. Primocin (50 µg/ml) |
| 27. Fibroblast Büyüme Faktörü 10 (FGF10) (20 ng/ml) | 28. R-Spondin 3 (250 ng/ml) |
| 29. Fibroblast Büyüme Faktörü 7 (FGF7) (5 ng/ml) | 30. SB202190 (500 nM) |
| 31. Glutamax (1X) | 32. Tripan mavisi |
| 33. Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) | 34. Tris Base |
| 35. Y-27632 (5 µM) | 36. Trypsin (%0,1) |
| 37. %37 Formaldehit | |

2. Sarf Malzeme Listesi

1. 0,5/1,5 ml Eppendorf
2. 10/25 ml hacimli serolojik pipet
3. 10µl, 100µl, 1000µl'lik pipet uçları
4. 22 no'lu bistüri
5. 2 ml'lik cam pastör pipetler
6. 25cm² ve 75cm²'lik flask
7. 5ml ve 10ml hacimlerinde enjektörler
8. 70 µm süzgeç
9. 90 mm çapında steril Petri kabı
10. 96 kuyulu flat plate
11. Lam, Lamel
12. Mikrotom Bıçakları
13. Steril santrifüj tüpleri(15 ml, 50 ml)
çapında)
14. Steril tek kullanımlık filtreler (0,2 mikron)
15. T-75 hücre kültür kabı
16. Thoma Lamı



3. Cihaz Listesi

Cihaz Adı

3B Yazıcı
-4°C Buzdolabı
-20°C Buzdolabı
- 86°C Buzdolabı
Buharlı sterilizatör (Otoklav)
Class II Laminar Akış Kabini
CO₂ inkübatörü
Etüv
Floresan mikroskop
Hassas terazi
Manyetik mini karıştırıcı
(Hotplate)
Mikroplate inkübatör
Mikrotom
Mini santrifüj
Soğutuculu santrifüj
Şırınga pompası
Mikrotitre Plaka Okuyucu

Marka/Menşei

Creality Sermoon D1/ Çin
Arçelik/Türkiye
Arçelik/Türkiye
Haier Biomedical/Çin
Nüve/Türkiye
Haier/Çin
Panasonic/ABD
Isolab/Almanya
Olympus/Japonya
SHIMADZU AUW220D/Japonya
HI190M, Hanna Instruments/ABD

Heidolph/Almanya
Reichert/ABD
Scan Speed/ABD
Beckman Culture/ABD
New Era Pump Systems/ABD
Thermo Fisher Scientific/ABD