فصلنامه فناوری در مهندسی هوافضا

دوره: ۷ / شماره: ۱ / بهار ۱۴۰۲/ صفحه ۲۳- ۱۷

DOI: 10.30699/jtae.2023.7.1.2

علمی-ترویجی / تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۳ / تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸

بررسی مدل‌های کشت سلول گیاهی برای تحقیقات فضایی

حلیمه حسن‌پور[۱*]

۱*- استادیار، پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

*** نویسنده مخاطب: hassanpour@ari.ac.ir**

انتخاب نمونه مناسب زیستی برای مطالعات فضایی از اهمیت بسزایی برخوردار است. کشت سوسپانسیون سلول‌های گیاهی به‌دلیل دارا بودن جمعیت یکنواخت از سلول‌های در حال تکثیر، شرایط مناسبی را برای مطالعه انواع تنش‌ها از جمله میکروگراویتی فراهم می‌نمایند. سیستم‌های کشت سلولی در آزمایشگاه می‌تواند به صورت مدل‌های کشت دو بعدی و سه‌بعدی انجام شود. در مدل دو بعدی سلول‌ها بصورت تک لایه کشت شده و پاسخ‌های رشد و تمایز متفاوتی را با شرایط طبیعی نشان می‌دهند. درحالیکه، سلول‌ها در کشت سه‌بعدی در شرایطی کشت می‌شوند که مشابه با شرایط طبیعی سلول و بافت در بدن موجود زنده بوده و برای اهداف دارویی، تولید متابولیت‌های ثانویه و بیومس در مقیاس بالا کاربرد دارد. در این پژوهش، پیشرفت‌های اخیر و تکنولوژی‌های مورد استفاده برای کشت سه‌بعدی سلول مورد مطالعه قرار خواهد گرفت.

واژه‌های کلیدی: کشت سه‌بعدی سلولی، راکتور زیستی، داربست، متابولیت‌های دارویی

Investigation of Plant Cell Culture Models for Space Research

H. Hassanpour[1*]

1* Assistant Professor, Faculty Aerospace Research Institute, Ministry of Science, Research and Technology, Tehran, Iran

***Corresponding Author: hassanpour@ari.ac.ir**

The selection of suitable biological sample for space studies has vital importance. Plant cell suspension culture containing a homogenous population of proliferating cells prepares the proper situation to study various cell responses under stress conditions, especially microgravity. Cell culture systems in the laboratory can be performed in the two-dimensional (2D) and 3D culture models. In the 2D culture model, cells are cultured as a monolayer and show different growth and differentiation responses comparing to normal conditions. While in the 2D model, cells are cultured in conditions that are similar to the normal conditions of cells and tissues in the living organisms and are used for medicinal purposes, production of secondary metabolites and biomass on a large scale. In this research, recent advancements and technologies used for 3D cell culture will be studied.

Keywords: 3D cell culture, Bioreactor, Scaffold, Pharmaceutical metabolites.

۱ مقدمه

کشت سلول گیاهی به عنوان یک سیستم جایگزین برای تولید متابولیت‌های ارزشمند داروئی به شمار می‌رود. میزان تولید متابولیت ثانوی در کشت سلولی بیشتر از گیاه بوده و می‌تواند به عنوان یک تکنیک برای تولید مواد اولیه داروئی ارزشمند بکار رود. در مطالعات فضایی کوتاه مدت، سلول‌ها به عنوان نمونه‌های زیستی مناسب برای بررسی اثر شرایط فضا بر رشد و تولید متابولیت‌های داروئی گیاه هستند، اما ارسال سلول‌های گیاهی به فضا با مشکل تثبیت‌سازی سلول‌ها برای پرتاب همراه بوده و نیاز به تثبیت نمودن سلول‌ها با هیدروژل یا داربست است [۱].

اولین بار هاریسون[1] و همکاران (۱۹۰۷) نوعی تکنیک را برای کشت سلول فیبرهای عصبی ارائه دادند و از آن به بعد این تکنیک توسعه یافت و امروزه تحقیقات زیادی با استفاده از تکنیک کشت سلولی انجام می‌شود [۲]. در ابتدا کشت‌ها به صورت دو بعدی صورت می‌گرفت. اما در شرایط طبیعی بدن موجودات زنده، واکنش‌های سلول- سلول[2] و سلول- ماتریکس[3] در یک ساختار سه‌بعدی است. کشت سلول‌ها به صورت تک لایه ای دوبعدی نتوانست شرایط مشابه درون زیوه[4] را فراهم نمایند و نیازمند تست‌های جانوری و آزمایشات بالینی برای تایید آزمایشات بود [۳].

سیستم کشت‌های دوبعدی که در آن سلول‌ها بصورت تک لایه ای شناور هستند، در بیشتر تحقیقات پایه سلولی استفاده می‌شود. این سیستم‌های کشت ساده، قابل دسترس و اقتصادی بوده و به طور وسیعی استفاده می‌شوند. اما این مدل از کشت دارای محدودیت‌ها و مشکلات زیادی است [۴].

سیستم‌های کشت سه‌بعدی دارای جذابیت بالایی هستند که بدلیل شباهت آن‌ها در ساختارهای مشابه بافت بوده و کارایی بالاتری را نسبت به کشت‌های تک لایه ای دارند. در مدل‌های کشت سه‌بعدی، از ویژگی‌های طبیعی و معماری سلولی کپی برداری می‌شود و برای اهداف مختلف از جمله تولید متابولیت‌های ثانویه، بیومس بالا، درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها و شناسایی اهداف دارویی بکار می‌رود [۴]. سیستم کشت سه‌بعدی، بستری را برای مطالعه فیزیولوژیکی آماده نموده و سلول‌ها رفتاری مشابه با سلول‌های طبیعی نشان می‌دهند. در دهه گذشته انواعی از سیستم‌های کشت درون زیوه برای دستیابی به سیستم کشت سه‌بعدی برای تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند و بیومس بالا توسعه یافته است و مطالعه وقایع سلولی در شرایط درون زیوه عملیاتی شد [۵].

پرتاب‌های فضایی شرایط منحصر به فردی را برای مطالعات زیستی مهیا می‌کنند و کشت‌های سلولی به عنوان نمونه‌های مناسب در پرتاب‌های کوتاه مدت حتی در حد ۱۵- ۲۰ ثانیه می‌باشند. انتخاب سلول‌های مناسب برای پرتاب با توجه به هزینه بالای پرتاب از اهمیت بسزایی برخودار است و می‌تواند منجر به توسعه دانش زیست شناسی سلولی شود [۶]. هدف از این مطالعه بررسی مطالعاتی مدل‌های مناسب کشت سلولی برای پرتاب می‌باشد. نتایج این تحقیق می‌تواند منجر به توسعه و پیشرفت دانش زیست فضا و استفاده از نتایج آن برای کاربردهای زمینی گردد.

کشت سلولی به عنوان یک مدل پایه برای کشف داروها در آزمایشات اولیه بالینی است. کشت دو بعدی سلولی به عنوان اولین گزینه انتخابی محققان برای دستیابی به نتایج اولیه است، اما کشت‌های دو بعدی شرایط فیزیولوژیکی را بصورت شبکه سه‌بعدی فراهم نمی‌کنند و نتایج واقعی را برای مطالعات دارویی نشان نمی‌دهند. اولین اشکال کار سلول‌های دوبعدی این است که نتایج تحقیقات بدست آمده در مورد بسیاری از آزمایشات گمراه کننده است. در مطالعات درمانی استاندارد، معمولا بعد از تحقیقات و تست روی سلول‌های با کشت دوبعدی، تست حیوانی و سپس تست بالینی صورت می‌گیرد. در طول هریک از این فازها بتدریج کارایی ترکیب یا داروی مورد نظر کاهش می‌یابد. در واقع، کمتر از ۵ درصد داروهای ضد سرطان و ملکول‌های شیمی درمانی از فاز بالینی عبور می‌کنند [۵]. در کشت‌های سنتی سوسپانسیون سلول‌های گیاهی، زنده مانی سلول‌ها کم بوده و نیاز به واکشت آن‌ها برای هر ۲ هفته یکبار است. همچنین نیاز به شیکر نمودن مدام سلول‌ها برای اکسیژن رسانی است [۶].

بزرگترین مشکل کشت‌های سنتی دوبعدی، عدم کپی برداری از معماری و محیط کشت طبیعی می‌باشد. کشت سلول دوبعدی در مقایسه با سلولت‌های طبیعی از جنبه‌های مختلف نظیر ویژگی‌های مورفولوژیکی، تکثیر، پتانسیل تمایز، واکنش‌های سلول- سلول، ماتریکس احاطه کننده سلولی و انتقال سیگنال مورد بررسی قرار گرفته و تفاوت‌هایی را نشان دادند. این نگرانی‌ها با کشت سه‌بعدی رفع خواهد شد [۴].

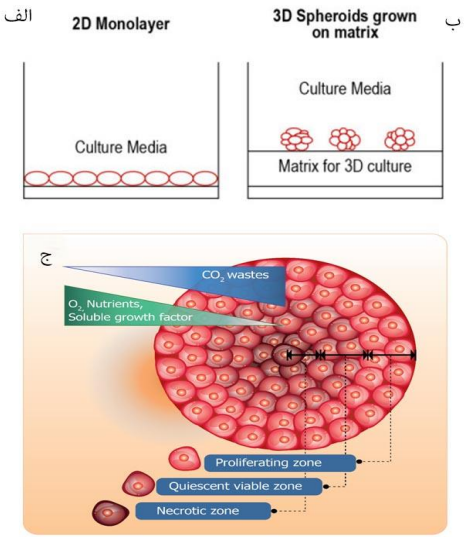
کشت سه‌بعدی سلول روش‌های آشکارتر فیزیولوژیکی را برای مطالعه آماده نموده و سلول‌ها رفتاری مشابه با سلول‌های طبیعی نشان می‌دهند. در دهه گذشته انواعی از سیستم‌های کشت درون زیوه برای دستیابی به سیستم کشت سه‌بعدی برای تولید داروهای جدید، درمان سرطان و کار با سلول‌های بنیادی توسعه یافت و مطالعه وقایع سلولی در شرایط درون زیوه امکان پذیر شد [۵].

کشت‌های سه‌بعدی منجر به آشکارسازی ترکیبات ماتریکس درون زیوه ، فعل و انفعالات سلول- سلول و ماتریکس- سلول می‌شوند. ویژگی‌های کشت سه‌بعدی در شکل ۱ مشخص شده

1. Harrison
2. Cell-cell
3. Cell-matrix
4. In vivo

است. کشت‌های سه‌بعدی سلولی سبب هدایت سلول‌ها به فرم دایره ای سه‌بعدی با استفاده از ماتریکس خارج سلولی- سلول می‌شوند. توده‌های سلولی کروی از مهمترین ویژگی سلول‌های شرایط درون زیوه برای ایجاد تمایز، تکثیر و عملکرد سلولی است. بنابراین کشت سه‌بعدی به عنوان مدلی پیشرفته برای آزمایشات بر پایه سلولی و آشکارسازی پاسخ‌های فیزیولوژیکی برای تحقیقات دارویی بویژه سلول‌های بنیادی/ سرطانی است [۶].

در ارگانیسم‌های چند سلولی، تشکیل بافت به صورت آرایش سه‌بعدی با اتصالات سلول- سلول و سلول به محیط اطراف می‌باشد. انتقال مواد غذایی و مواد شیمیایی بین سلول‌ها در شرایط درون زیوه دینامیکی بوده و گردش مواد غذایی صورت می‌گیرد. بنابراین آرایش سه‌بعدی سلول بهترین کارایی را در محیط کشت سلولی به عهده دارد. در کشت سه‌بعدی، سلول‌ها به شکل توده ای یا کروی در ماتریکس سلولی یا محیط کشت آرایش می‌یابند. حتی اگر فعل و انفعالات سلول- سلول و سلول- ماتریکس به طور کامل در مدل کشت کروی (سه‌بعدی) به طور کامل کپی برداری نشود، ولی به اندازه کافی نزدیک به مدل طبیعی سلولی بوده و تغییرات موفولوژیکی مشابهی را ایجاد می‌نماید (شکل ۱ج) [۷ و ۸].



شکل ۱- تصویر شماتیکی از سیستم‌های کشت‌های سلولی تک لایه ای دو بعدی و کشت سه‌بعدی. الف) کشت سلولی سنتی دو بعدی تک لایه ای، ب) سیستم‌های کشت سه‌بعدی و ج) ساختار کروی سه‌بعدی با مناطق مختلف سلولی [۸].

در ساختار کروی توده‌های سلولی میتوان مراحل مختلف فعل و انفعالات سلولی نظر تکثیر، غیرفعال شدن، مرگ سلولی و نکروزه شدن را به دلیل شیب مواد غذایی و سطح اکسیژن بررسی نمود [۸]. معمولا سلول‌های قابل تکثیر در سطح خارجی توده‌های سلولی قرار گرفته که بدلیل دسترسی به مواد غذایی کافی می‌باشد. در بخش مرکزی سلول‌ها غیر فعال یا به حالت هیپوکسی[5] هستند که بدلیل کمبود اکسیژن، فاکتورهای رشد و مواد غذایی می‌باشد. این ناهمگونی سلولی در جمعیت کاملا مرتبط با اندام‌ها، بافتها و حتی تومورها در شرایط درون زیوه است. کشت سه‌بعدی از نظر ریخت شناسی، فعل و انفعالات سلولی، ناهمگنی سلول‌ها در بافت و اندام منطقی بنظر می‌رسد [۹]. در کشت سه‌بعدی سلول‌های گیاهی نیز توده‌های کروی سلولی در بستر هیدروژل یا داربست ایجاد می‌شود. هیدروژل‌ها می‌توانند به صورت دانه ای و یا صفحه ای لایه نازک طراحی شوند که بستگی به هدف کار دارد و سلول‌ها در آن تثبت شوند. سپس هیدروژل‌ها را در محیط کشت مایع قرار داده تا متابولیت‌ها وارد محیط شوند. معمولا برای پروتوپلاست‌ها از کشت لایه نازک و دیگر سلول‌ها از کشت‌های هیدروژل دانه ای استفاده می‌شود. اما مشکل کشت سلول‌های گیاهی، جدا شدن سلول‌ها از توده‌های کروی و مخلوط شدن آن با محیط مایع است که نیاز به بررسی و مطالعه بیشتر در آینده دارد [۱۰ و ۱۱].

مقایسه مدل کشت توده‌ای سه‌بعدی و مدل کشت دوبعدی تک لایه ای در جدول ۱ صورت گرفته است. مطالعات زیادی به بررسی کشت‌های دو و سه‌بعدی پرداخته اند و ثابت نموده اند که این کشت‌ها از نظر زنده مانی سلولی، مورفولوژی، تمایز، تکثیر سلولی، پاسخ سلولی به محرک‌ها، ارتباطات سلولی، چسبندگی سلولی، مهاجرت و .... با هم فرق دارند. برای نمونه قطبیت سلولی در مدل‌های سه‌بعدی دقیق تر صورت می‌گیرد و در مدل دوبعدی تا حدی قطبی به نظر می‌رسد[۱۲]. طول عمر و پایداری سلول‌های گیاهی در مدل سه‌بعدی بیشتر از دو بعدی است بطوریکه در سه‌بعدی سلول‌ها بیش از ۳ هفته طول عمر دارند، ولی دو بعدی بعد از یک هفته بدلیل برخوردهای سلولی رشدشان محدود می‌شود. بنابراین کشت‌های سلولی سه‌بعدی برای آزمایشات طولانی مدت و بررسی پاسخ‌های سلولی مناسب ترند [۱۳]. تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت سه‌بعدی افزایش چند برابری را در کشت سلول گیاهی نشان داد [۱۴].

جدول ۱- مقایسه‌کشت دو بعدی و سه‌بعدی سلول‌ها از نظر پاسخ‌های مورفولوژیکی و تولید متابولیت ثانویه [۱۱، ۱۲ ، ۱۴ و ۱۵].

ردیف	نوع کشت	دو بعدی	سه‌بعدی
۱	کشت درون زیوه	ساختار طبیعی بافت ایجاد نشد	بافت و اندام در کشت سه‌بعدی ایجاد شد
۲	قطبیت	بسیار کم	ایجاد قطبیت دقیق
۳	مورفولوژی	سلول‌ها کشیده و به صورت لایه ای و شناور	سلول‌ها بصورت توده‌های کروی شکل

5. Hypoxy

۴	فعل انفعالات سلول- سلول	بسیار کم	فعل و انفعالات مناسب سلول- سلول و ماتریکس- سلول
۵	دسترسی به مواد غذایی	دسترسی محدود	دسترسی زیاد به اکسیژن، مواد غذایی و متابولیت
۶	تولید متابولیت ثانوی	افزایش معنی دار نسبت به شاهد	افزایش چندین برابری نسبت به شاهد
۷	زنده مانی سلولی	محدود برای یک تا دو هفته	سه هفته تا چند ماه
۸	بیومس	افزایش معنی دار	افزایش چندین برابری در مقیاس بالا
۹	پاسخ دارویی	ارتباط کم بین سلولهای دوبعدی و پاسخ سلول‌های انسانی	پاسخ مشابه سلول‌های سه‌بعدی با سلول‌های سرطانی

۲ تکنولوژی‌های کشت سه‌بعدی سلول

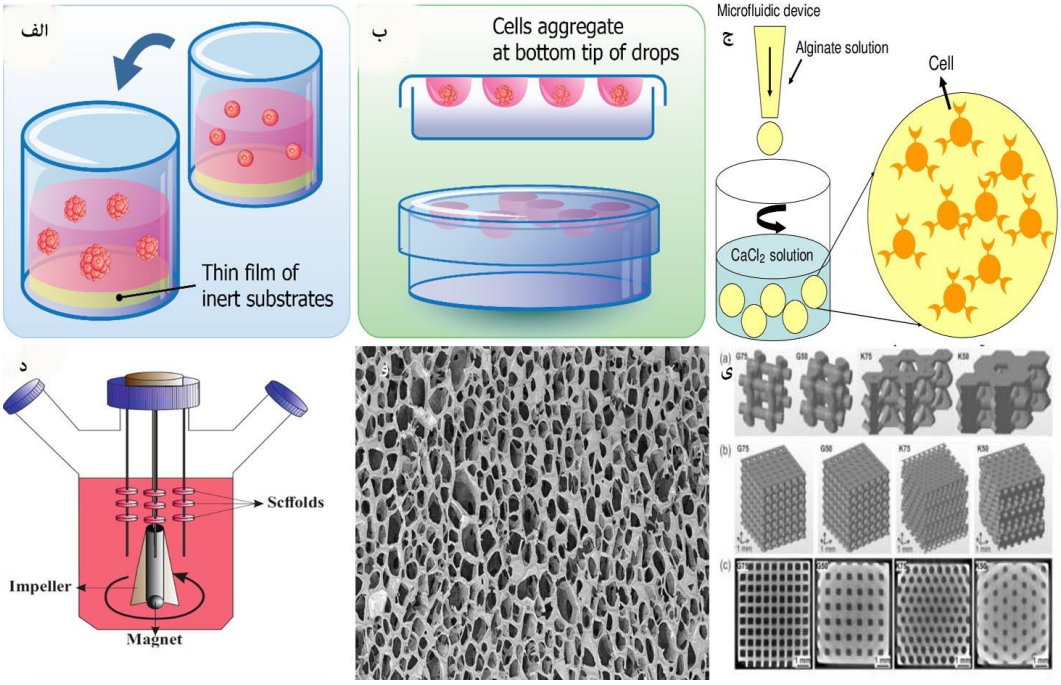
کشت سه‌بعدی دارای کاربردهای گوناگون در علوم زیستی و دارویی است و تاکنون مطالعات زیادی روی توسعه و بهینه سازی این نوع کشت انجام شده است. با توجه به پیشرفت‌های اخیر در زیست سلولی و مهندسی بافت، طیف وسیعی از مدل‌های کشت سه‌بعدی ارائه شده است که شامل کشت روی سطح مایع، کشت، صفحه‌ای، کشت سلول در هیدروژل، کشت سلول در راکتور زیستی ، کشت روی داربست و چاپگرهای زیستی می‌باشد که به بررسی آنها خواهیم پرداخت [۱۶].

۲. ۱ کشت روی سطح مایع

این کشت ساده ترین تکنیک کشت سه‌بعدی است (شکل ۲ الف). برای ایجاد کشت سه‌بعدی، کشت روی یک لایه نازک از بستر خنثی نظیر آگار، آگارز یا ماتری ژل[۶] انجام می‌شود. کشت سطح مایع منجر به ایجاد توده‌های سلولی کروی شکل می‌شود. این تکنیک مقرون به صرفه بوده و بدون نیاز به تجهیزات خاص قابل اجرا است. اما مشکل این نوع کشت، بررسی اندازه و تعداد توده‌های سلولی کروی به علت چسبندگی روی سطح می‌باشد [۱۱].

۲. ۲ کشت روی سطح صفحات

در این روش صفحاتی با چسبندگی کم حاوی چاهک با لایه ای پلیمرهای آبدست طراحی شده است که از اتصال سلول‌ها به سطح جلوگیری می‌کند. در هر چاک این صفحات یک توده کروی ایجاد شده که در کل دارای کارایی متوسط است (شکل ۲ب) [۱۱].



شکل۲- تکنیک‌های مختلف کشت سه‌بعدی. الف: کشت روی سطح مایع، ب: کشت قطرات معلق روی صفحات، ج: قرارگیری در هیدروژل، د: راکتور زیستی چرخان، و: داربست، ی: چاپگرهای زیستی [۱۱ و ۱۶].

6. Matrigel

۳ هیدروژل‌ها

هیدروژل‌ها شبکه ای از مواد پلی مری متصل به هم هستند که معمولا آبدوست بوده و مقادیر زیادی آب را در خود نگه می‌دارند (شکل ۲ج). دارای ساختار متورم یا به صورت میکروسفر در شبکه یکپارچه از کپسول‌های سلولی‌اند که گردش مواد غذایی و مواد زاید در آنها به خوبی صورت می‌گیرد. بعلاوه هیدروژل‌ها دارای بافت نرم مشابه ماتریکس سلولی بوده و معمولا از مخلوط پلی مرهای طبیعی نظیر کلاژن و آلژینات، دو ماده پر مصرف، در کشت سه‌بعدی سلول ابجاد می‌شود. البته این هیدروژل‌ها دارای مشکلاتی نظیر عدم کنترل سنتیکی ژل، غیر قابل کنترل بودن ترکیب پلی مری و عدم یکپارچگی مکانیکی می‌باشند. تنوع زیادی داشته که بدلیل خطا در مراحل تولید این مواد و مشکل مواد اولیه ساخت این هیدروژل‌ها می‌باشد [۱۶].

هیدروژل‌ها براساس نوع پلیمری طبیعی یا سنتزی تقسیم بندی می‌شوند. این ترکیبات جاذب آب، هیدروفیل و دارای خاصیت ارتجاعی بالا می‌باشند و با توجه به ویژگی‌هایشان مناسب برای کشت سه‌بعدی سلول‌ها هستند. با توجه به شباهت ساختاری شان با ماتریکس سلولی، برای انتقال مواد شیمیایی در کشت درون زیوه در مقیاس کم مناسب اند. تعدادی از این پلی مرها برای تشکیل هیدروژل‌ها شامل اسیدهای هیالورونیک، پلی اتیلن گلیکول، کلاژن، ژلاتین، فیبرین، آلژینات و آگارز هستند، اما هیدروژل‌های طبیعی نظیر آلژینات و ماتری ژل برای کپسوله کردن سلول‌ها مناسب تر اند [۱۷].

تکنیک هیدروژل برای کشت سلول با استفاده از هیدروژل کلسیم آلژینات برای اولین بار انجام شد که با مخلوط نمودن سلول‌ها با هیدروژل کلسیم آلژینات صورت گرفت. میکروسفرهای بر پایه هیدروژل در محلول ایزوتونیک آلژینات انجام شد (شکل ۲ج). هیدروژل‌های آلژینات از چسبندگی سلولی بازدارندگی نموده و غیرس‌می‌اند. سلول‌ها در هیدروژل ساکن مانده و حرکت ندارند. بعلاوه تولید اندام‌های خاص مصنوعی با کپسوله کردن سلول‌ها یا بافت‌ها برای درمان بیماری‌ها از جمله دیابت امکانپذیر است [۱۷].

کشت سه‌بعدی در هیدروژل می‌تواند با مدل‌های دیگر کشت سلولی نظیر کشت‌های کروی سلولی، کشت‌های سلولی بر پایه داربست و بر پایه میکرو چیپ همراه شود. هیدروژل‌ها به عنوان یک تکنیک پتانسیلی برای تکنولوژی سه‌بعدی درون زیوه محسوب شده که به دلیل سازگاری زیستی، مقادیر کافی آب و خواص مکانیکی مشابه با ماتریکس سلولی می‌باشد. اگرچه هیدروژل‌ها در اهداف دارویی خیلی کاربرد ندارند، ولی در توسعه مهندسی بافت از جمله استخوان، قلب، رگ و ... با مخلوط نمودن سلول‌ها با هیدروژل استفاده می‌شوند. در تحقیقات گیاهی نیز در کشت پروتوپلاست، تهیه بذرهای مصنوعی، تولید متابولیت‌های ثانوی در مقیاس بالا و طولانی مدت کاربرد دارند [۱۸ و ۱۹]. همچنین هیدروژل‌ها منجر به تسهیل نقل و انتقال مواد و سیگنالینگ سلولی شده و نوعی محیط حمایتی را برای رشد و عملکرد سلولی فراهم می‌سازند. برای نمونه انتقال فاکتور رشد که در هیدروژل پلی اتیلن گلیکول منجر به عملکرد ماهیچه‌ای شد. در بین هیدروژل‌ها، هیدروژل کلسیم آلژینات به عنوان کاندید مناسبی برای برای انتقال سلول به بافت قلبی است که به دلیل غیر سمی بودن، عدم انتقال آلودگی به بافت، تبادلات بالای مواد زاید و مواد غذایی می‌باشد [۱۵]. کشت سلول‌های گیاه آرابیدوپسیس در هیدروژل آگارز با نقطه ذوب پایین سبب افزایش رشد و زنده مانی سلولی تحت شرایط میکروگراویتی شد، ولی مشکل جدا نمودن سلول‌ها از هیدروژل آگارز وجود داشت. نکته دیگر اینکه علاوه بر فواید کار با هیدروژل‌ها، مضراتی هم وجود دارد که از جمله آن ایجاد ژل در pH خاص بوده که می‌تواند اثر منفی روی عملکرد سلولی داشته باشد [۱].

۴ راکتور زیستی[۷]

راکتورهای زیستی ابزارهایی برای تکثیر سلول‌ها در مقیاس بالا هستند. این راکتورها برای کشت سه‌بعدی به چند دسته راکتورهای زیستی با فلاسک چرخشی[۸]، سیستم‌های کشت دورانی[۹]، راکتورهای زیستی تزریقی[۱۰] و سیستم‌های بر پایه نیروی مکانیکی[۱۱]تقسیم بندی می‌شوند. نوع عمومی راکتور زیستی برای کشت سه‌بعدی سلول به صورت کشت سوسپانسیون سلولی با تراکم بهینه بوده که همراه با چرخش مداوم و آرام می‌باشد. چرخش ظرف راکتور زیستی و یا چرخش محیط کشت با استفاده از سیستم پمپ صورت می‌گیرد. راکتورهای زیستی معمولا به یک سیستم جریان محیط کشت برای گردش مواد غذایی و سایر فاکتورهای مورد نیاز تجهیز می‌شوند. این سیستم برای تکثیر سلولی در مقیاس زیاد ، تولید مواد شیمیایی نظیر آنتی بادی یا فاکتورهای رشد استفاده می‌کنند، اما برای ایجاد سلول‌های توده ای کروی نیاز به مطالعات بیشتری است [۲۰].

۵ داربست‌ها

داربست‌ها ساختارهای سه‌بعدی بوده که از طیف وسیعی از مواد ساخته شده و دارای خواص متفاوتی از جمله نفوذپذیری، سطح شیمیایی و خواص مکانیکی هستند. داربست‌ها برای ماتریکس

7. Bioreactor
8. Spinner flask bioreactors
9. Rotational culture systems
10. Perfusion bioreactors
11. Mechanical force systems

سلولی در کشت سه‌بعدی در شرایط درون زیوه و کپی برداری بافت طراحی می‌شوند. همچنین، برای معرفی، کشف دارو و بررسی رفتار سلولی کاربرد دارند. داربست‌ها قابلیت سازگاری بالا، قابلیت تجریه و منفذدار هستند و محیط مناسبی را برای جایگیری سلول‌ها، حفاظت مکانیکی، فیزیکی، نیازهای بیوشیمیایی و عملکرد سلولی فراهم می‌کنند. چندین پلی مر زیستی برای ایجاد داربست‌های منفذدار وجود دارند که شامل کلاژن، ژلاتین، ابریشم، کیتوزان و آلژینات می‌باشد. تکنیک‌های مختلفی برای ایجاد داربست مناسب استفاده می‌شود که شامل فوم گازی، فریز- درایینگ، جداسازی فازی و غیره است. هر تکنیک دارای ویژگی، منفذ، شکل و جنبه‌های متفاوتی است. از بین آنها فریز- درایینگ به عنوان آسانترین تکنیک برای ایجاد داربست منفذدار مناسب است.

مواد سنتزی یا طبیعی پلی مریزه شده، یخ زده و با فریز خشک (فریز- درایینگ) می‌شوند. آب نفوذ یافته در پلی مر یخ‌زده و ایجاد منفذ می‌نماید. تکنیک فریز برای ایجاد داربست‌های منفذ دار از پلی مرهای پلی گلیکولیک و پلی لاکتیک توسعه یافت. داربست‌های آلژینات منفذدار با استفاده از تکنیک فریز- درایینگ به سادگی ساخته می‌شوند (شکل ۲و). ایجاد منافذ یک شکل و مشابه روی داربست کار مشکلی است، ولی با تکنیک فریز- درایینگ و تغییر دمای فریز ممکن است. از فوائد این تکنیک عدم نیاز به مراحل شستشو بوده، زیرا آب نفوذ یافته به محلول پلی مر به صورت بخار خارج می‌شود. البته تجزیه داربست به نسبت زیادی وابسته به ترکیبات پلی‌مر و وزن ملکولی آن دارد [۲۱]. با توجه به مطالعات، پلی مر کلسیم آلژینات به عنوان ماده غالب برای داربست فریز- درایینگ است. برای مطالعه سلول‌های سرطانی و مهندسی بافت از این نوع داربست استفاده می‌شود. این نوع داربست اجازه مطالعات زیستی در شرایط درون زیوه را می‌دهد.

۶ چاپگرهای زیستی سه‌بعدی

تکنیک چاپگر زیستی سه‌بعدی یک تکنولوژی جدید بوه که منجر به ایجاد ساختارهای سه‌بعدی کامپیوتری می‌شود و در آن مواد مخلوط، جامد و به هم مرتبط می‌شوند. چاپگر سه‌بعدی کاربرد وسیعی داشته و علاوه بر کارهای زیستی، در طراحی‌های سه‌بعدی هنری نیز کاربرد دارند. در واقع بافت‌های سه‌بعدی متشکل از سلول و مواد زیستی در ابعاد کوچک از چند میلی متر تا سانتی‌متر چاپ می‌شوند. زنده مانی و عملکرد سلولی در این ساختارها حفظ می‌شود (شکل ۲ی). چاپ سه‌بعدی نیاز به سلول و مواد زیستی داشته، ملکول‌های زیستی به صورت لایه‌ای روی هم قرار گرفته و با کمک دستگاه و نرم افزار طراحی و ساخته می‌شوند [۲۲].

۷ نتیجه‌گیری

کشت‌های سلولی به عنوان گزینه‌های مناسب برای بررسی پاسخ‌های سلولی هستند. انواع مختلفی از کشت‌های سلولی وجود دارد که شامل کشت‌های دو بعدی و کشت سه‌بعدی می‌باشند. کشت‌های سه‌بعدی سلولی می‌توانند شرایطی مشابه به بافت و اندام را ایجاد نمایند و برای مطالعات سلولی مناسب ترند. برای کشت سه‌بعدی سلول‌های گیاهی می‌توان از تکنیک‌های مختلف کشت روی سطح، کشت در هیدروژل، کشت در راکتورها و چاپگرهای زیستی استفاده نمود که انتخاب نوع تکنیک بستگی به هدف از انجام کار دارد. کشت سلول‌های گیاهی در هیدروژل اقتصادی ترین و ساده ترین روش کشت سه‌بعدی است که از هیدروژل آلژینات استفاده می‌گردد. این کشت می‌تواند سبب افزایش زنده مانی، تولید بیومس و متابولیت‌های دارویی در مقیاس بالا شود. از این تکنیک برای تهیه بذرهای مصنوعی و دستیابی به واریته‌های جدید از پروتوپلاست‌ها نیز استفاده می‌گردد. بنظر می‌رسد این تکنیک می‌تواند در تحقیقات سلولی گیاهی برای نگهداری طولانی مدت سلول‌ها و همچنین در تحقیقات فضایی که نیاز به تثبیت سازی سلول‌ها دارد، کاربرد موثر داشته باشد.

۸ مراجع

[1] K. Y. Kamal, J. J. van Loon, F. J. Medina, and R. Herranz, "Embedding Arabidopsis plant cell suspensions in low-melting agarose facilitates altered gravity studies," Microgravity Science and Technology, vol. 29, pp. 115-119, 2017.
[2] R. G. Harrison, "Observations on the living developing nerve fiber," Proceedings of the society for experimental biology and medicine, vol. 4, no. 1, pp. 140-143, 1906.
[3] K. M. Yamada and E. Cukierman, "Modeling tissue morphogenesis and cancer in 3D," Cell, vol. 130, no. 4, pp. 601-610, 2007.
[4] C. J. Lovitt, T. B. Shelper, and V. M. Avery, "Advanced cell culture techniques for cancer drug discovery," Biology, vol. 3, no. 2, pp. 345-367, 2014.
[5] S. Gerecht-Nir, S. Cohen, A. Ziskind, and J. Itskovitz-Eldor, "Three-dimensional porous alginate scaffolds provide a conducive environment for generation of well-vascularized embryoid bodies from human embryonic stem cells," Biotechnology and bioengineering, vol. 88, no. 3, pp. 313-320, 2004.
[6] H. Hassanpour, "Effect of Microgravity on Nucleolar Protein Contents and Regulation of Plant Cell Division," Journal of Technology in Aerospace Engineering, vol. 4, no. 4, pp. 19-11, 2021.
[7] H. Hassanpour and V. Niknam, "Establishment and assessment of cell suspension cultures of Matricaria chamomilla as a possible source of apigenin under static magnetic field," Plant Cell,

Tissue and Organ Culture (PCTOC), vol. 142, no. 3, pp. 583-593, 2020.
[8] R. Edmondson, J. J. Broglie, A. F. Adcock, and L. Yang, "Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors," Assay and drug development technologies, vol. 12, no. 4, pp. 207-218, 2014.
[9] J. B. Kim, "Three-dimensional tissue culture models in cancer biology," in Seminars in cancer biology, 2005, vol. 15, no. 5, pp. 365-377: Elsevier.
[10] H. F. Sakhanokho, C. T. Pounders, and E. K. Blythe, "Alginate encapsulation of Begonia microshoots for short-term storage and distribution," The Scientific World Journal, vol. 2013, 2013.
[11] R. M. Cusidó, J. Palazón, M. Bonfill, O. Expósito, E. Moyano, and M. T. Piñol, "Source of isopentenyl diphosphate for taxol and baccatin III biosynthesis in cell cultures of Taxus baccata," Biochemical engineering journal, vol. 33, no. 2, pp. 159-167, 2007.
[12] L. A. Gurski, N. J. Petrelli, X. Jia, and M. C. Farach-Carson, "3D matrices for anti-cancer drug testing and development," Oncology issues, vol. 25, no. 1, pp. 20-25, 2010.
[13] D. Antoni, H. Burckel, E. Josset, and G. Noel, "Three-dimensional cell culture: a breakthrough in vivo," International journal of molecular sciences, vol. 16, no. 3, pp. 5517-5527, 2015.
[14] P. Morris and M. W. Fowler, "A new method for the production of fine plant cell suspension cultures," Plant cell, tissue and organ culture, vol. 1, pp. 15-24, 1981.
[15] P. Brodelius, B. Deus, K. Mosbach, and M. Zenk, "Immobilized plant cells for the production and transformation of natural products," Febs Lett, vol. 103, no. 1, pp. 93-97, 1979.
[16] J. Frampton, M. Hynd, M. Shuler, and W. Shain, "Fabrication and optimization of alginate hydrogel constructs for use in 3D neural cell culture," Biomedical Materials, vol. 6, no. 1, p. 015002, 2011.
[17] N. Hunt, A. M. Smith, U. Gbureck, R. Shelton, and L. Grover, "Encapsulation of fibroblasts causes accelerated alginate hydrogel degradation," Acta biomaterialia, vol. 6, no. 9, pp. 3649-3656, 2010.
[18] Y. Y. Jeong, H.-Y. Lee, S. W. Kim, Y.-S. Noh, and P. J. Seo, "Optimization of protoplast regeneration in the model plant Arabidopsis thaliana," Plant Methods, vol. 17, no. 1, pp. 1-16, 2021.
[19] J. Rauh, F. Milan, K.-P. Günther, and M. Stiehler, "Bioreactor systems for bone tissue engineering," Tissue Engineering Part B: Reviews, vol. 17, no. 4, pp. 263-280, 2011.
[20] C.-Y. Chen, C.-J. Ke, K.-C. Yen, H.-C. Hsieh, J.-S. Sun, and F.-H. Lin, "3D porous calcium-alginate scaffolds cell culture system improved human osteoblast cell clusters for cell therapy," Theranostics, vol. 5, no. 6, p. 643, 2015.
[21] S. V. Murphy and A. Atala, "3D bioprinting of tissues and organs," Nature biotechnology, vol. 32, no. 8, pp. 773-785, 2014.