



**İÜ**  
**ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ**  
**DNA İZOLASYONU TALİMATI**

Doküman No:OE-GEN-PR-001/TL-021  
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017  
Revizyon No :00  
Revizyon Tarihi :  
Sayfa No : 1 / 2

**1. AMAÇ**

DNA izolasyon işleminin doğru bir şekilde yapılmasını sağlamak amacı ile bu talimat hazırlanmıştır.

**2. KAPSAM**

Bu talimat periferik kandan AmoyDx Kandan DNA izolasyon kiti ile DNA izolasyon yönteminin tüm aşamalarını içermektedir.

**3. SORUMLULAR**

Kanser Genetiği Laboratuvarı çalışanları.

**4. UYGULAMALAR**

**4.1. Prosedür :**

**4.1.1.** DNA izolasyonuna başlamadan önce DNA izolasyonu yapılacak hasta materyali “**DNA İzolasyon İşlem Formu**”na kaydedildikten sonra işleme geçilir.

**4.1.2.** Kit yeni açıldığında DW1 solüsyonu içine 17ml absolüt etanol, DW2 solüsyonu içine 24ml absolüt etanol eklenir.

**4.1.3.** EDTA'lı tüpe alınmış 10mL kan' dan 200 µl' si 1.5 ml' lik santrifüj tüpüne aktarılır.

**4.1.4.** Tüpe 20 µl Proteinaz K ve 180 µl BDL solüsyonu eklenir. Pipetleyerek iyice karıştırılır.

**4.1.5.** Daha sonra 12000rpm de 30 sn santrifüj edilir.

**4.1.6.** 56° C' de 10 dk inkübasyon yapılır.

**4.1.7.** 200 µl absolüt etanol eklenir ve vortekslenir.

**4.1.8.** 12000rpm de 10 sn santrifüj edilir.

**4.1.9.** Tüpteki sıvı 2 ml' lik DNA toplama tüpüne yerleştirilmiş olan DNA spin kolona aktarılır. Kapağı kapatılır ve 12000 rpm' de 20 sn santrifüj edilir.

**4.1.10.** Kolon temiz bir 2 ml' lik tüpe aktarılır.

**4.1.11.** 600 µl DW1 solüsyonu kolon üzerine eklenir ve 12000 rpm' de 20 sn santrifüj edilir.

**4.1.12.** Toplama tüpündeki sıvı dökülür.

**4.1.13.** 600 µl DW2 solüsyonu kolon üzerine eklenir ve 12000 rpm' de 20 sn santrifüj edilir.

**4.1.14.** Toplama tüpündeki sıvı dökülür.

**4.1.15.** Kolon 12000 rpm' de 3 dk santrifüj edilir.

**4.1.16.** Toplama tüpündeki sıvı dökülür.

**4.1.17.** Kolon temiz bir 1.5 ml' lik tüpe aktarılır.

HAZIRLAYAN	GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN	ONAYLAYAN
SÜREÇ SORUMLUSU	KALİTE TEMSİLCİSİ	BAŞHEKİM



**İÜ**  
**ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ**  
**DNA İZOLASYONU TALİMATI**

Doküman No:OE-GEN-PR-001/TL-021  
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017  
Revizyon No :00  
Revizyon Tarihi :  
Sayfa No : 2 / 2

**4.1.18.** 100 µl BDE solüsyonu, kolonun içindeki membranın ortasına bırakılır.

**4.1.19.** Oda sıcaklığında 3 dk. İnkübasyona bırakılır.

**4.1.20.** Kolon 12000 rpm' de 1 dk santrifüj edilir.

**4.1.21.** Tam olarak çözülen DNA'nın konsantrasyon ve kalite kontrolü "**DNA/PZR/SAFLAŞTIRMA kalite kontrol**" talimatına göre yapılır.

**4.1.22.** Bu işlem sonunda oluşabilecek her türlü kayıp "**Materyal Kayıp İzlem Formu**" ile kayıt altına alınır.

#### **4.2. Güvenlik**

**4.2.1.** Muhakkak eldivenle çalışılmalıdır.

**4.2.2.** Kimyasalların deri ile temasından kaçınılmalıdır.

**4.2.3.** Yakıcı ve bulunduğu kanserojen özellik gösteren kimyasalların deri ile temasından kaçınılmalı, çalışma esnasında uzun kollu önlük giyilmelidir.

**4.2.4.** Deri ile temas eden maddeler madde türüne göre su ya da uygun solüsyonlarla temizlenmelidir.

#### **4.3. Saklama Koşulları**

DNA'lar kısa süre zarfında sıklıkla kullanılacaklar ise oda sıcaklığında ya da +4°C' de saklanır.

Uzun süre kullanılmayacak DNA' lar -30°C ya da -80°C'de muhafaza edilir.

### **5. ATIK PROSEDÜRÜ**

DNA izolasyonu sırasında oluşan Fenol/Kloroform atıkları kahverengi cam şişede biriktirilir ve "**Çevre ve Atık Yönetim Planı**"na göre uzaklaştırılır.

Biten DNA'ların tüpleri ve DNA bulaşan malzemeler ise "**Çevre ve Atık Yönetimi Talimatı**"na göre ve kırmızı kapaklı sarı kutulara atılarak uzaklaştırılır.

### **6. İLGİLİ DOKÜMAN**

**6.1.** DNA İzolasyon İşlem Formu

**6.2.** Materyal Kayıp İzlem formu

**6.3.** Çevre ve Atık Yönetimi Talimatı

HAZIRLAYAN

GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN

ONAYLAYAN

SÜREÇ SORUMLUSU

KALİTE TEMSİLCİSİ

BAŞHEKİM