



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
DNA/PZR/SAFLAŞTIRMA KALİTE KONTROL TALİMATI

Doküman No::OE-GEN-PR-001/TL-022
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017
Revizyon No :00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 1 / 2

1. AMAÇ

Kanser Genetiği Laboratuvarında DNA izolasyonu, PZR reaksiyonları ve Saflaştırma işlemleri sonunda elde edilen ürünlerin durumunun görüntülenmesi ve buna bağlı olarak sonraki işlemlerin doğru bir şekilde gerçekleştirilmesi amacı ile bu talimat hazırlanmıştır.

2. KAPSAM

Elektroforez, uygun pH ve elektrolit ortamında elektrik yüklü moleküllerin elektrik akımı yoluyla birbirlerinden ayrıştırılması işlemidir. Bu talimat DNA molekülünün elektroforez yöntemi ile ayrıştırılmasını kapsamaktadır.

3. SORUMLULAR

Kanser Genetiği Laboratuvarı çalışanları

4. UYGULAMALAR

4.1. Elektroforez işleminin yapılacağı uygun elektrolit ve pH ortamını sağlamak amacı ile elektroforez tankları ile aynı ortamı oluşturmak için agaroz jel hazırlamada 0,5X TEB tamponu kullanılmaktadır. ,

4.2. Agaroz jel hazırlanışı:100 ml 0,5X TEB solüsyonun bulunduğu erlenmayer içine 1,5 gr agaroz karıştırılarak %1,5'lik jel hazırlanır. Karışım içindeki agaroz eriyene kadar mikrodalga fırında kaynatılarak agaroz taneciklerinin mümkün olan en kısa sürede erimesi sağlanmalıdır.

4.3. Çözelti 60°C' ye kadar soğutulur ve UV altında görüntü alabilmek için 5mg/mL olacak şekilde 5 µL Etidyum bromür eklenir.

4.4. DNA'nın uygulanacağı kuyucukları oluşturmak için plastik plakanın yüzeyinden yaklaşık olarak 2 mm yukarıya tarak yerleştirilmelidir.

4.5. 60°C'ye kadar soğutulmuş agaroz çözeltisi kalıbın içine dökülür.

4.6. Jel oda sıcaklığında yaklaşık 30-45 dakikada ya da soğuk odada 15 dakikada donar.

4.7. Hazırlanan jel elektroforez tankına yerleştirilir. Jelden taraklar dikkatlice çıkarılır.

4.8. Elektroforez tankı içine hazırlanan tampon (0,5X TEB) çözeltisi eklenir.

4.9. Örnekler yükleme işlemi için gerekli olan boyayı içermiyorsa Bromfenol blue(BPB) adlı boya ile karıştırılarak, içeriyorsa elektroforetik ölçümü için jele doğrudan yüklenir.

4.10. Her sırada bir jel kuyusuna marker (yürütülecek olan örneğin uzunluğuna uygun olmalı) yüklenir.

4.11. Jelin yürütülmesi işlemi "**Elektroforez Cihazları Kullanma Talimatı**" na göre yapılır.

HAZIRLAYAN

GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN

ONAYLAYAN

SÜREÇ SORUMLUSU

KALİTE TEMSİLCİSİ

BAŞHEKİM



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
DNA/PZR/SAFLAŞTIRMA KALİTE KONTROL TALİMATI

Doküman No::OE-GEN-PR-001/TL-022
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017
Revizyon No :00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 2 / 2

4.12. “Elektroforez Cihazları Kullanma Talimatı” na göre yapılan eletroforez işleminden sonra elektrotlar dikkatlice çıkarılır ve kapak açılır. Jel, görüntüleme yapılması için jel dokümantasyon cihazına alınır ve görüntüleme işlemi **“Jel Dökümantasyon Cihazı Kullanma Talimatı”**na göre yapılır.

4.13. Jel görüntüsü Jel Dökümantasyon Cihazı’na bağlı bulunan yazıcı kullanılarak basılır. Basılı fotoğraflar ilgili reaksiyonların yapıldığı işlem formlarına (**DNA izolasyonu işlem Formu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu İşlem Formu, Saflaştırma İşlem Formu**) yapıştırılır ve reaksiyon dokümanlarının saklandığı dosyalara kaldırılır.

4.14. Bu işlem sonunda oluşabilecek her türlü kayıp **“Kanser Genetiği Laboratuvarı Materyal Kayıp İzlem Formu”** ile kayıt altına alınır.

5. GÜVENLİK

• Agaroz jele eklenen Etidyum bromür son derece kanserojen bir maddedir. Bu nedenle solumaktan ve çıplak elle temas etmekten kaçınılmalıdır. Temas halinde, temas eden bölge bol su ile yıkanmalıdır.

• Elektrotları takarken yüksek voltaj nedeni ile dikkatli olunmalıdır.

6. SAKLAMA KOŞULLARI

• DNA’lar kısa süre içinde kullanılacak ise oda sıcaklığında ya da +4°C’ de saklanır.

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

7. ATIK PROSEDÜRÜ

7.1. DNA izolasyonu sırasında oluşan Fenol/Kloroform atıkları kahverengi cam şişede biriktirilir ve **“Çevre ve Atık Yönetimi Talimatı”**na göre uzaklaştırılır.

7.2. Biten DNA’ların tüpleri ve DNA bulaşan malzemeler ise **“Çevre ve Atık Yönetimi Talimatı”**na göre ve kırmızı kapaklı sarı kutulara atılarak uzaklaştırılır.

8. İLGİLİ DÖKÜMAN

8.1. DNA izolasyonu işlem Formu,

8.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu İşlem Formu,

8.3. Saflaştırma İşlem Formu

8.4. Materyal Kayıp İzlem formu

8.5. Çevre ve Atık Yönetimi Talimatı

HAZIRLAYAN

GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN

ONAYLAYAN

SÜREÇ SORUMLUSU

KALİTE TEMSİLCİSİ

BAŞHEKİM