



**İÜ**  
**ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ**  
**ETANOLLE ÇÖKTÜRME İŞLEM TALİMATI**

Doküman No:OE-GEN-PR-001/TL-024  
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017  
Revizyon No :00  
Revizyon Tarihi :  
Sayfa No :1 / 2

### 1. AMAÇ

Bu talimat, Kanser Genetiği laboratuvarlarındaki gen analizleri sırasında kullanılan moleküler biyolojik tekniklerden biri olan Dizi analizi (Sanger dizi analizi) işlemi için DTCS Reaksiyon prosedürü'nün devam aşaması niteliğinde olan etanol çöktürmesi işleminin tam ve doğru bir şekilde yapılması için oluşturulmuştur.

### 2. KAPSAM

Bu talimat, DTCS reaksiyonu ile ilgili gen bölgesine ait PZR ürünün etanol ile çöktürme işlemini kapsamaktadır.

### 3. SORUMLULAR

Kanser Genetiği Laboratuvarı çalışanları

### 4. UYGULAMALAR

- 4.1. 2µL 100mM Na<sub>2</sub>EDTA (pH 8,0) , 2µL 3M Sodyum Asetat (Ph 5,2), 1µL 20 mg/mL glikojen ile her bir ürün için hazırlanan Stop Mix 1,5 mL' lik tüplere koyulur.
- 4.2. Tüplere daha önceden hazırlanmış DTCS ürünü eklenir.
- 4.3. Üzerine -20°C' tan çıkarılan 60 µL saf Etanol ilave edilir.
- 4.4. 14000 RPM'de 15dk santrifüj yapılır. Bu aşamadan itibaren tüm Santrifüj işlemleri +4°C sıcaklıkta yapılır.
- 4.5. Santrifüj işlemi sonunda üst sıvı pipet yardımı ile toplanır.
- 4.6. Pellet üzerine %70'lik 200 µL etanol eklenir.
- 4.7. 14000 RPM 5dk santrifüj yapılır.
- 4.8. Pellete dokunmadan üst sıvı toplanır.
- 4.9. Tüpler konsantratörde 20-25 dakika, Etanol'ün tamamen uçması ve pelletin tam olarak kuruması için inkübe edilir.
- 4.10. Kurutma işleminden sonra 40 µL SLS eklenir.
- 4.11. Bu işlemden sonra ürünler 96'lık plakalara yüklenerek kapiler elektroforez işlemine hazır hale getirilmiş olur.
- 4.12. Bu işlem sonunda oluşabilecek her türlü kayıp **“Materyal Kayıp İzlem Formu”** ile kayıt altına alınır.

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



**İÜ**  
**ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ**  
**ETANOLLE ÇÖKTÜRME İŞLEM TALİMATI**

Doküman No:OE-GEN-PR-001/TL-024  
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017  
Revizyon No :00  
Revizyon Tarihi :  
Sayfa No :2 / 2

#### 4.13. Güvenlik

- İşlem sırasında kullanılan Na<sub>2</sub>EDTA ve Sodyum Asetat toksik kimyasallardır. Deri ve göz ile teması mutlaka engellenmelidir.
- SLS solüsyonu Formamid içermektedir. Formamid toksik bir ajan olup, gözlere, deriye, solunum sistemine ve santral sinir sistemine zarar verebilir. Kullanırken mutlaka dikkatli olunmalıdır.

#### 4.14. Saklama Koşulları

- DTCS ürünleri, etanol çöktürmesi işleminden sonra tüp içinde veya 96'lık plakalara yüklendikten sonra kapiler elektroforezi yapılmayacak ise ışık görmemesi için Alüminyum folyo ile sarılarak +4 °C' de 3 gün boyunca saklanabilir.
- Glikojen ve SLS -20°C' de saklanmalıdır.
- Na<sub>2</sub>EDTA (pH 8,0) ve Sodyum Asetat (pH 5,2) pH dereceleri değişmeyecek şekilde, parafilm ile kapatılmalı ve oda sıcaklığında saklanmalıdır.

#### 4.15. Atık Prosedürü

Bu işlem sırasında oluşan atık kimyasallar ve malzemeler kırmızı kapaklı sarı atık kutularında kapağı sıkı bir şekilde kapatıldıktan sonra "**Çevre ve Atık Yönetimi Talimatı**"na göre laboratuvardan uzaklaştırılır.

### 5. İLGİLİ DÖKÜMAN

- Materyal Kayıp İzlem Formu
- Çevre ve Atık Yönetimi Talimatı

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