



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
KİMYASAL / SOLÜSYON HAZIRLAMA TALİMATI

Doküman No::OE-GEN-PR-001/TL-025
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017
Revizyon No :00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 1 / 3

1. Amaç

Kanser Genetiği Laboratuvarı'nda rutin analizlerde kullanılan bazı kimyasal ve solüsyonların doğru bir şekilde hazırlanmasını sağlamak amacı ile bu talimat hazırlanmıştır.

2. Kapsam

Gerekli kimyasalların belli konsantrasyonda ve pH'da solüsyon/çözelti haline getirilmesi için gerekli talimatları içermektedir.

3. Sorumlular

Kanser Genetiği ve Moleküler Onkoloji Laboratuvarı çalışanları

4. UYGULAMALAR

4.1. Lysis Buffer Çözeltisinin Hazırlanışı

- NH_4Cl (1M) çözeltisinden 155 mL,
- KHCO_3 çözeltisinden 10 mL,
- EDTA (0,5M) çözeltisinden de 0,2 mL alınır.
- Bu çözeltiler bir mezüre aktarılır ve distile su ile 1 litreye tamamlanır.
- DNA Lökositlerden (beyaz kan hücrelerinden) elde edilir ve LYSIS BUFFER çözeltisi kırmızı kan hücrelerini (eritrosit) patlatıp uzaklaşmasını sağlar.
- Lysis buffer çözeltisinin buzdolabında muhafaza edilmesi gerekmektedir. Bunun nedeni eritrositlere daha hızlı etki edebilmesi içindir.

4.2. SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) Çözeltisinin Hazırlanışı

- 100 gr SDS tartılır.
- 900 mL distile suda çözülür.
- pH: HCl ile 7.2' ye ayarlanır.
- SDS bir deterjan türevidir ve özellikle hücre zarındaki lipitleri uzaklaştırmak için kullanılır.
- SDS çözeltisinin daha uzun süre kullanılabilmesi için kapağının sıkı kapatılması ve konsantrasyonunun bozulmaması için kısa süreli hazırlanması gerekmektedir.

4.3. SE (Sodyum EDTA) Çözeltisinin Hazırlanışı

- Önceden hazırlanmış olan NaCl (1M) çözeltisinden 15 mL,
- EDTA (0,5M) çözeltisinden 50 mL,

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



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
KİMYASAL / SOLÜSYON HAZIRLAMA TALİMATI

Doküman No::OE-GEN-PR-001/TL-025
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017
Revizyon No :00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 2 / 3

- Tris (1M) çözeltisinden 30 mL alınır.
- Distile su ile 1 litreye tamamlanır.
- SE, Ortamda bulunan metal iyonlarını bağlayarak, hücresel enzim aktivitesini durdurur. EDTA Mg⁺²'u bağlayarak DNAaz işlevini yok eder.
- Çözeltinin daha uzun süre kullanılması için kullanılan distile suyun temiz olması gerekmektedir. Çözeltiyi bozacak bakterilerin ürememesi için serin bir yerde muhafaza edilmelidir.

4.4. Proteinaz-K Çözeltisinin Hazırlanışı

- 27000g/mol olan Proteinaz- K 5 mL su ile iyice çözülür.
- Daha sonra alikotlar halinde dondurulur ve kullanılır.
- Proteinleri parçalamak için kullanılan enzimdir.
- Proteinaz-K enzim olduğundan -20° C' de ve alikotlar halinde muhafaza edilmelidir. Oda sıcaklığında bekletilmemelidir. Kullanım esnasında buz içinde tutulmalı ve kullanılır kullanılmaz -20°C' ye kaldırılmalıdır.

4.5. TE Çözeltisinin Hazırlanışı

- 20 mL Tris (1 M)' inden alınır.
- 2 mL EDTA (0,5 M)' inden alınır.
- Bu iki çözelti bir mezüre aktarılır.
- Distile su ile 1 litreye tamamlanır.
- TE çözeltisi DNA'yı çözmek için kullanılır.
- TE çözeltisi hazırlandıktan sonra otoklavlanmalı steril bir şekilde kullanılmalıdır.

4.6. Kristalize Fenolü Dozurma Çözeltisinin Hazırlanışı

- 25 mL Tris (1 M)' inden alınır.
- 1 mL EDTA (0,5 M)' inden alınır.
- Bu iki çözelti bir mezüre aktarılır.
- Distile su ile 500mL litreye tamamlanır.
- TE çözeltisi Fenol için kullanılır.
- TE çözeltisi hazırlandıktan sonra otoklavlanmalı steril bir şekilde kullanılmalıdır.

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



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
KİMYASAL / SOLÜSYON HAZIRLAMA TALİMATI

Doküman No::OE-GEN-PR-001/TL-025
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017
Revizyon No :00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 3 / 3

4.7. Fenol Çözeltisinin Hazırlanışı

- Kristalize Fenol kendi ambalajı içinde 1 gece 56° C'de bekletilir. Bu inkübasyonla Kristalize fenol'ün erimesi sağlanır.
- Fenol için farklı konsantrasyonda TE çözeltisi (50mM Tris-Cl; 1mM EDTA) hazırlanır.
- Eriyen kristalize Fenol hazırlanan TE çözeltisi ile karıştırılır.
- 1 gece Fenol'ün çökmesi ve iki faz oluşması için bekletilir.
- Ertesi gün pH indikatörü ile pH'sına bakılır. pH:7 ise fenol kullanılabilir düzeye gelmiştir. Değilse Fenol üzerindeki TE solüsyonu bir pipet yardımı ile alınır ve yerine yeni TE solüsyonu eklenerek iyice karıştırılır ve tekrar iki fazın ayrılması için gece boyu bekletilir.
- İstenilen özelliğe gelen Fenol havayla temas etmeyecek şekilde, koyu renkli şişelerde, kapağı sıkıca kapatılmış olarak, alikotlar halinde -20°C' de dondurularak muhafaza edilmelidir.

4.8. Güvenlik

Solüsyon hazırlanması sırasında “ **Laboratuvar Güvenlik Rehberi**”ne uygun çalışılır.

4.9. Saklama Koşulları

- Solüsyonların/kimyasalların her birinin özel muhafaza koşulları hazırlama talimatlarının altında belirtilmiştir.
- Özel olarak belirtilmeyenler, serin ve kuru bir yerde saklanmalıdır.

4.10. Atık Prosedürü

Hazırlanan solüsyon/kimyasalların ömrü çok uzun değildir. Nemli bir ortamda buldukları ya da gerektiği şekilde koyu renkli şişelerde muhafaza edilmezse solüsyonlar içerisinde bakterilerin üremesi ve bozulması söz konusudur. Böyle durumlarda atık kimyasallar kırmızı kapaklı sarı atık kutularına aktarılmalı ve “ **Çevre ve Atık Yönetimi Talimatı**”na göre laboratuvardan uzaklaştırılır.

5. İLGİLİ DOKÜMAN

- Laboratuvar Güvenlik Rehberi
- Çevre ve Atık Yönetimi Talimatı

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