



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
LENFOSİT İZOLASYONU TALİMATI

Doküman No: OE-GEN-PR-002/TL-020
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017
Revizyon No :00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 1 / 2

1. Amaç

Bu talimat Kanser Genetiği ve Moleküler Onkoloji Laboratuvarları'nda yapılan gen analizleri için alınan kanlardan lenfosit ayrıştırılmasının doğru ve amacına uygun şekilde yapılmasını sağlamak için düzenlenmiştir.

2. Kapsam

Lenfosit İzolasyonu işlemlerini kapsar.

3. Tanım

Lenfositler kanda dolaşan lökositlerin yaklaşık olarak yarısını oluştururlar. Fikol bütün solüsyonlarda çözülebilen hidrofilik bir polisakkarittir ve kanı içeriğinde bulunan lenfosit, eritrosit gibi komponentlere ayırtmayı sağlar. Santrifüj sonrasında ayrılan fazlarda en dipte eritrosit ve granülositler pellet halinde, lenfositler ortada tüp çeperine yapışmış şekilde ve beyaz bir hücre bulutu halinde, plazma ve diğer bileşenler ise en üstte sıvı şekilde gözlemlenirler. Lenfositler DNA izolasyonunda kullanılacak materyaller olduğundan, hasta materyalinin yetersiz olduğu noktalarda kullanılmak üzere izole edilip saklanmalıdır.

4. Sorumlular

Kanser Genetiği ve Moleküler Onkoloji Laboratuvarı Çalışanları

5. Uygulamalar

- Falkon tüp içine 10 mL izotonik solüsyon eklenir.
- Üzerine hastadan alınan 10 mL periferik kan ilave edilir.
- İzotonik ile karıştırılmış periferik kan fikollü tüplere yavaşça aktarılır.
- 30dk 1950 rpm'de santrifüj yapılır.
- Tüp içerisinde ortada hücre bulutu şeklinde görülen lenfositler pipet yardımı ile başka bir tüpe toplanır.
- 10dk 1950 rpm'de santrifüj yapılır.
- Üstteki sıvı dökülür.
- 4000µl PBS eklenir ve iyice karıştırılır.
- İsimlendirilmiş Cryo tüplere 1000 µL dağıtılır.

HAZIRLAYAN:

GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN:

ONAYLAYAN:

SÜREÇ SORUMLUSU

KALİTE TEMSİLCİSİ

BAŞHEKİM



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
LENFOSİT İZOLASYONU TALİMATI

Doküman No: OE-GEN-PR-002/TL-020
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017
Revizyon No :00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 2 / 2

- 2dk 1950 rpm’de santrifüj yapılır.
- Üst sıvı tekrar dökülür.
- Lenfositler saklamak üzere hazır hale getirilir.
- Kanser Genetiği Laboratuvarı’na gelen hastalar için ayrıştırılan lenfositler “**Sıvı Azot Tankı Yerleşim Formu**”na kaydedilerek sıvı azot tankına yerleştirilir. Sıvı azot tankındaki hücrelerin yerleşim noktaları “**BRCA Hasta Kayıt Formu**”na eklenir.
- Bu işlem sonunda oluşabilecek her türlü kayıp “**Kanser Genetiği Laboratuvarı Materyal Kayıp İzlem Formu**” ve “**Lenfositten DNA İzolasyon Çizelgesi**” ile kayıt altına alınır.

6. Güvenlik

- Lenfosit izolasyonu yapılmadan önce tüplerin doğru şekilde kodlanmasına dikkat edilmelidir.
- Çalışılan materyal kan yolu ile bulaşabilen hastalıklar taşıma olasılığına sahip olduğundan çalışan kişi mutlaka eldiven ile ve koruyucu diğer önlemleri alarak çalışmalıdır.

7. Saklama Koşulları

- Lenfositler, Cryo tüplerde -196°C’ lik sıvı azot tanklarında saklanır.
- Fikol ışıktan etkilenen bir kimyasal malzeme olduğundan karanlıkta ve koyu renkli şişelerde, oda sıcaklığında saklanmalıdır.

8. İlgili Doküman

- 8.1. Sıvı Azot Tankı Yerleşim Formu
- 8.2. BRCA Hasta Kayıt Formu
- 8.3. Kanser Genetiği Laboratuvarı Materyal Kayıp İzlem Formu
- 8.4. Lenfositten DNA İzolasyon Çizelgesi

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