|  |
| --- |
| **DNA Dizi Analiz Cihazı Numune Kabul Kriterleri**  ODTÜ MERLAB Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji AR-GE Merkezi GEN Laboratuvarı DNA Dizi Analiz cihazı deneylerinden yüksek kalitede veri elde edebilmek için aşağıda açıklanan Numune Kabul Kriterlerine uyulması gerekmektedir.   1. DNA Dizi Analiz cihazında tek sarmal ya da çift sarmal DNA örneklerinin, PCR ürünlerinin ve Cosmid, BAC ve büyük plazmitlerin dizi analizleri yapılabilmektedir. MERLAB’a teslim edilen numunenin tanımı yapılarak, “Genom Analiz Laboratuvarı Deney İstek Formu” nun “Deney Parametreleri “ bölümünde bildirilmelidir. 2. Numunenin taşınma ve muhafaza koşulları : Numunelerin MERLAB Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Ar-Ge Merkezi’ne getirilmesine kadar geçen sürede muhafazasının sorumluluğu müşteriye aittir. Soğuk zincir gerektiren numuneler, soğuk zincir bozulmadan laboratuvara getirilmelidir. Numuneler mutlaka RNase/DNase free 0,5-2 mL’lik eppendorf tüplerde teslim edilmelidir. Çatlak, kırık yada temiz bir görünüme sahip olmayan tüpler numunenin özelliklerini bozmuş olabileceğinden kabul edilmeyecektir. Numune tüpleri numuneyi açıklayacak bilgileri içeren etikete sahip olmalıdır. 3. Numuneler 01’den başlayarak müşteri tarafından mutlaka kodlanmalıdır. Deney raporunda sadece numune kodları belirtilecektir. 4. Numune tanımına uygun olarak deneyin gerçekleşmesi için teslim edilmesi gereken konsantrasyon, miktar ve dokümanlar aşağıda belirtilmiştir.   **DNA örnekleri;**   1. Sekanslanacak DNA örneğini teslim edilmeden önce PCR yöntemi ile çoğaltılmalı ve saflaştırılmalıdır. Eğer bu işlemler araştırmacı tarafından yapılmadıysa Merkezimizi bilgilendirerek bizden talep edebilir. 2. Sekanslanacak DNA örneği PCR ürünü değil ise; 50-100 ng/µl konsantrasyonunda ve en az 25 µl hacminde olmalıdır. DNA örneği agaroz jelde koşturularak resmi çekilmelidir. Resim ve spektrofotometrik ölçüm sonuçları (konsantrasyon ve A260/A280 oranı) örnekle birlikte teslim edilmelidir. 3. Dizi analizi yapılacak DNA bölgesine özel ileri ya da geri primerler 10pmol konsantrasyonda ve en az 10 µl hacimde teslim edilmelidir. Dizi analizi çift yönlü yapılması isteniyorsa( hem ileri hem geri primer ile), her iki primerinde yukarıda belirtilen koşullarda teslim edilmesi gerekmektedir.   **PCR ürünleri;**   1. Sekanslanacak PCR ürünü teslim edilmeden önce saflaştırılmalıdır. Eğer saflaştırma işlemi araştırmacı tarafından yapılmadıysa Merkezimizi bilgilendirerek bizden talep edebilir. 2. Saflaştırılmamış örnekten 50 µl, saflaştırılmış örnekten 25 µl olmalıdır. DNA örneği agaroz jelde koşturularak resmi çekilmelidir. Resim ve spektrofotometrik ölçüm sonuçları (konsantrasyon ve A260/A280 oranı) örnekle birlikte teslim edilmelidir. 3. Dizi analizi yapılacak DNA bölgesine özel ileri ya da geri primerler 10pmol konsantrasyonda ve en az 10 µl hacimde teslim edilmelidir. Dizi analizi çift yönlü yapılması isteniyorsa( hem ileri hem geri primer ile), her iki primerinde yukarıda belirtilen koşullarda teslim edilmesi gerekmektedir.   **Cosmid, BAC ve büyük plazmitler;**   1. Sekanslanacak DNA örneğini teslim edilmeden önce saflaştırılmalıdır. Eğer bu işlemler araştırmacı tarafından yapılmadıysa Merkezimizi bilgilendirerek bizden talep edebilir. 2. Sekanslanacak DNA örneği; büyük plazmitler için 150-300 ng/µl, cosmid ve BAC için 500-1000ng konsantrasyonunda ve en az 25 µl hacminde olmalıdır. DNA örneği agaroz jelde koşturularak resmi çekilmelidir. Resim ve spektrofotometrik ölçüm sonuçları (konsantrasyon ve A260/A280 oranı) örnekle birlikte teslim edilmelidir. 3. Dizi analizi yapılacak DNA bölgesine özel ileri ya da geri primerler 10pmol konsantrasyonda ve en az 10 µl hacimde teslim edilmelidir. Dizi analizi çift yönlü yapılması isteniyorsa (hem ileri hem geri primer ile), her iki primerinde yukarıda belirtilen koşullarda teslim edilmesi gerekmektedir. Sekans işlemi sırasında kullanılması gereken iç primerler varsa onlarında aynı koşullarda temin edilmesi gerekir. 4. Kaliteli bir dizi analizi elde edebilmek için sekanslanacak örneğin saf olması, kullanılan primerin GC baz içeriği, çok sağlam primer-dimer etkileşimlerine girmemesi ve saç tokası yapısı oluşturmaması gerekmektedir. 5. Deney istek formu doldurulmuş olmalıdır ve numune ile birlikte getirilmelidir. 6. Tahmini analiz süresi 1-3 gündür. 7. İletişim için [mlabgen@metu.edu.tr](mailto:mlabgen@metu.edu.tr) adresi kullanılabilir. |