|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Biyoanalizör Numune Kabul Kriterleri**ODTÜ MERLAB Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji AR-GE Merkezi GEN Laboratuvarı Biyoanalizör cihazı deneylerinden yüksek kalitede veri elde edebilmek için aşağıda açıklanan Numune Kabul Kriterlerine uyulması gerekmektedir. 1. Agilent 2100 Biyoanalizör cihazında RNA, DNA, protein ve hücre analizleri yapılabilmektedir. MERLAB’a teslim edilen numunenin tanımı Tablo 1’e göre yapılarak, “Genom Analiz Laboratuvarı Deney İstek Formu” nun “Deney Parametreleri “ bölümünde bildirilmelidir.

Tablo 1 Genom Analiz Laboratuvarı Deney İstek Formu Deney Parametreleri

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Kaynak Organizma**  | **RNA** | **DNA** | **Protein** | **Hücre** | **Diğer**  |
| Prokaryot  | Total RNA | gDNA  | 5-80 kDa  | Ökaryot |  |
| Ökaryot | mRNA  | 25-1000 bp dsDNA  | 14-230 kDa |  |  |
|  | small RNA  | 100-7500 bp dsDNA  | 10-250 kDa |  |  |
|  | cDNA  | 100-12000 bp dsDNA  |  |  |  |

1. 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.
2. Numuneler 01’den başlayarak müşteri tarafından mutlaka kodlanmalıdır. Deney raporunda sadece numune kodları belirtilecektir.
3. Numune tanımına uygun olarak deneyin gerçekleşmesi için teslim edilmesi gereken konsantrasyon, miktar ve dokümanlar Tablo 2’de belirtilmiştir.
4. Agilent 2100 Biyoanalizör hücre çalışmalarında iki renkli floresan tanısı yapabilmektedir. Kırmızı lazer için maksimum emisyon 635 nm’de, mavi lazer için 470 nm’dir. Deneyde kullanılacak boyaların okunabilme aralığı kırmızı kanal için 674 ile 696 nm arasında ve mavi kanal için 510 ve 540 nm arasında olmalıdır.Tablo 3’de kırmızı ve mavi kanallar için önerilen boyalar verilmiştir.

Tablo 2 Numune ile birlikte teslim edilmesi gereken konsantrasyon, miktar ve dokümanlar

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | Konsantrasyon | Hacim | Numune ile birlikte getirilmesi gereken doküman |
| RNA | Total RNA | 25-500ng/uL | 3uL | A260/A280>1.9 ve DNA ladder ile yürütülmüş jel fotoğrafı |
| mRNA | 25-250ng/uL | 3uL |
| small RNA | 50-2000pg/uL | 3uL |
| cDNA | 25-500ng/uL | 3uL |
| DNA | gDNA | 0.1-50ng/uL | 3uL | A260/A280>1.8-2.1 ve DNA ladder ile yürütülmüş jel fotoğrafı |
| 25-1000 bp dsDNA | 0.1-50ng/uL | 3uL |
| 100-7500 bp dsDNA | 0.1-50ng/uL | 3uL |
| 100-12000 bp dsDNA | 0.1-50ng/uL | 3uL |
| Protein | 5-80 kDa | 60-2000ng/uL | 12uL | - |
| 14-230 kDa | 15-2000ng/uL | 12uL |
| 10-250 kDa | 0.3-3000ng/uL | 12uL |
| Hücre | Ökaryot | 2x106 hücre/mL | 30uL | - |

Tablo 3 Kırmızı ve mavi kanallar için önerilen boyalar

|  |  |
| --- | --- |
| **Kırmızı kanal** | **Mavi kanal**  |
| CBNF (canlı hücre boyası) | GFP/EGFP (green florescent protein) |
| SYTO®62 (DNA boyası) | SYTO® 16 (DNA boyası) |
| Cy5, PE-Cy5, Cy5.5 (antikor işaretleyici) | Calcein (canlı hücre boyası) |
| CyChrome (antikor işaretleyici) | SYTOX® green (DNA boyası) |
| APC (antikor işaretleyici | Cell trackerTM green (canlı hücre boyası) |

1. Deney istek formu doldurulmuş olmalıdır ve numune ile birlikte getirilmelidir.
2. Tahmini analiz süresi 1-3 gündür.
3. İletişim için mlabgen@metu.edu.tr adresi kullanılabilir.

  |