

# MERKEZ LABORATUVAR

## Moleküler Biyoloji Deneylerinde Sıklıkla Kullanılan Bazı Aletlerin Tanıtımı

### Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC)



Karbonhidratların, organik asitlerin, vitaminlerin, amino asitlerin vs. saptanması, karakterizasyonu ve ölçümü.

HPLC, biyokimya ve analitik kimyada kullanılan, kolonun durgun fazıyla etkileşime ve polaritelerine göre maddeleri ayırmaya, tanımlamaya ve ölçmeye yarayan bir çeşit kolon kromatografisidir. HPLC farklı çeşit durgun fazları kullanır. Bunun dışında hareketli fazı hareket ettirmeye yarayan bir pompa, kolon boyunca analiz edilecek materyal ve onun kolon boyunca kalma zamanını ölçen bir saptayıcı içerir. Saptayıcı başka karakteristik bilgiler de içerebilir. Analiz edilecek maddenin kolonda kalma süresi durgun fazla olan etkileşimlerinin gücüne göre, kullanılan çözücülerin oran/içeriğine göre ve hareketli fazın akım hızına göre değişir.

## Hızlı Performans Sıvı Kromatografisi (FPLC)



Peptid, protein, nükleik asit ve oligosakkaritlerin analizi, saflaştırılması ve karakterizasyonu

FPLC, proteinleri kompleks karışımlardan ayırmak ve saflaştırmak için kullanılan bir çeşit sıvı kromatografisidir. FPLC'de çözücü hızı, sabit akış hızı sağlamak için pompalarla kontrol edilir. Tercih edilen ayırma çeşidine göre değişen kolonlar kullanılır. FPLC biyokimyada ve enzimolojide sıklıkla kullanılır.

## UV/vis spektrofotometre



Protein ve nükleik asit konsantrasyon belirlenmesi, DNA ve RNA'ların kinetik çalışmaları, ölüm ve saflaştırma saptanması.

UV/vis spektrofotometre; UV-vis spektral bölgede emilim spektroskopisine işaret eder. Yani ışığı görünür ve etrafındaki aralıktaki kullanır. Kullanılan kimyasalın rengini görünür ışığın emilimi direk olarak belirler. Elektromanyetik spektrumun bu bölgesinde, moleküller elektronik geçişlere maruz kalırlar. Bu teknik, floresans spektroskopisiyle tamamlayıcıdır. Floresans spektroskopide, floresans, uyarılmış durumdan temel duruma geçişlerle uğraşır. Emilim ise, temel durumdan uyarılmış duruma geçişleri ler.

## Polimeraz Zincir Reaksiyonu



## DNA amplifikasyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu bir parça DNA'nın bir ya da birden fazla kopyasını çoğaltmak için kullanılan bir tekniktir. Bu özel DNA sekansının binlerce milyonlarcaya kadar kopyasını üretir. Bu metot DNA'nın enzimatik replikasyonuna ve DNA erimesinin reaksiyonu olarak tekrarlanan ısınma ve soğumayı içeren döngülerden oluşan termal döngüye dayanır. DNA polimerazla hedef bölgeye tamamlayıcı olan sekansları içeren primerler; tekrarlamalı amplifikasyonu sağlamaya yönelik anahtar bileşendir.

## Protein Sekanslayıcı



Peptit ve protein sekans analizi

Bir proteindeki amino asitlerin sekanslarını belirlemek için kullanılan araçtır. Analiz edilen ve tanımlanan her bir aminoasidi etiketleyip çıkararak çalışırlar. Bu işlem bütün bir polipeptid için; tüm sekans oluşturulana kadar tekrar tekrar yapılır.

## DNA sekanslama

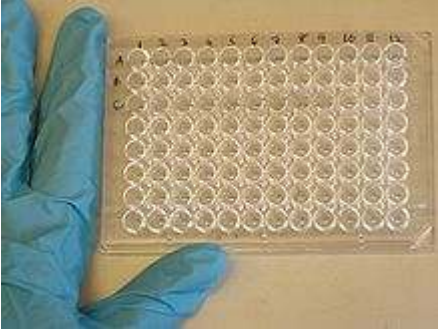


Oligonükleotit sentezi

Bir DNA sekanslayıcısı; DNA sekanslama aşamasını otomatize etmek için kullanılan alettir. Çoğunlukla, nükleotitlere eklenmiş florokromlardan gelen ışık sinyallerini analiz ettiği için bir optik enstrüman olarak da düşünülebilir.

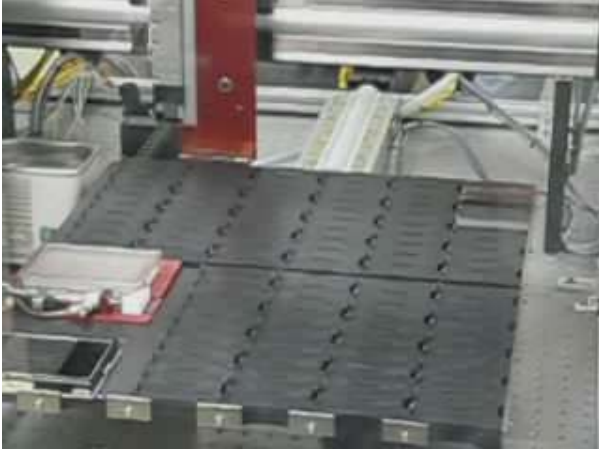
Basit bir DNA sekanslayıcısı, ilgilenilen DNA zincirine eklenmiş olan floresan boya tarafından emilen dalga boyundaki bir ya da birkaç lazere sahip olur. Sonra, boyanın floresanını yansıttığı dalgaboyunda saptayabilen bir ya da birkaç optik dedektöre sahip olacaktır. DNA zincirinin varlığı ya da yokluğu, dedektörün çıkışını izleyerek tespit edilir. Kısa DNA zincirleri jel maktisinde daha hızlı hareket edebilecekleri için onlar daha önce belirlenir. DNA zincirinin uzunluğuyla dedektör zamanı arasında doğru orantı vardır. Bu bağlantı, gerçek DNA sekansını belirlemede kullanılır.

## **ELISA**



ELISA; immunolojide sıklıkla kullanılan, bir örnekteki antikor ya da antijenin varlığını belirleyen bir yöntemdir. ELISA tıpta ve bitki patolojisinde teşhis aracı olarak, diğer alanlarda da kalite kontrol yöntemi olarak kullanılır. ELISA'da, bilinmeyen miktarda antijen bir yüzeye sabitlenir, daha sonra spesifik bir antikor yüzeyin üzerinden yıkanır, böylece antijene bağlanabilir. Bu antikor bir enzime bağlanır ve son basamakta enzimin farkedilebilir bir sinyale dönüştürebileceği bir madde eklenir. Bu yüzden, floresans ELISA durumunda, uygun dalga boyundaki ışık örneğin üzerine yansıtıldığı zaman, antijen/antikor kompleksleri floresans yayar böylece örnekteki antijen miktarı floresansın şiddetine göre tahmin edilebilir.

## **DNA mikroarray**



DNA mikroarray moleküler biyoloji ve tıpta kullanılan bir teknolojidir. Mikroarray binlerce mikroskobik DNA oligonükleotit noktalarına sahiptir. Her bir nokta, features, prob denilen özel bir DNA sekansının pikomollerini içerir. Bu; genin kısa bir bölümü olabilir ya da cDNA/cRNA hibritleşmesi olması için kullanılan bir başka DNA elementi olabilir. Prob-hedef hibritleşmesi genelde hedefteki nükleik asitlerin miktarını belirlemek için florofor etiketli hedeflerin belirlenmesiyle ölçülür ve saptanır. Bir array binlerce prob içerebildiğinden dolayı, bir mikroarray deneyi pek çok genetik testlerin sonucunu verebilir.