

AGARUZ JEL ELEKTROFOREZ TASARIMI

YAKIN DO U ÜN VERS TES

MEZUN YET PROJES

ASLIHAN VAS

FERHAT MARIM

U UR DEM RBA

GÜVEN ONUR YAKICI

L SANS TAMAMLAMA

B YOMED KAL MÜHEND SL

LEFKO A 2015

ET K

Yakın Do u Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, bitirme projesi yazım kurallarına uygun olarak hazırladı ımız bu proje çalı masında;

- Bitirme projesi içindeki bütün belge ve bilgileri akademik kurallar çerçevesinde elde etti imizi,
- görsel, i itsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sundu umuzu,
- kullanılan verilerde herhangi bir yanlış olmasın için özen gösterdi imizi,
- ve bu projenin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir bitirme projesi çalı ması olarak sunmadı ımızı

beyan ederiz.

20133463	Aslıhan VAS
20122375	Ferhat MARIM
20124246	U ur DEM RBA
20122343	Güven Onur YAKICI

TE EKKÜR

Bu projemizde yeni bir cihaz üretmeyip var olan bir cihazı kendimiz tasarladık. Bu süreçte bize yardımcı olan başta Bölüm Başkanımız Doç.Dr Terin ADALI olmak üzere bütün hocalarımıza, laboratuvar amalarında bize yardımcı olan Yakın Doğu Üniversitesi Hastanesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümüne te ekkür ederiz.

ÖZET

Bu projede amacımız;

Biyokimya, biyomedikal, genetik bilimi, mikrobiyoloji gibi alanlarda kullanılan jel elektroforez cihazını tasarlayıp, uygulama yapmaktır.

Jel elektroforez tiplerinden agaroz jel elektroforezi, mevcut sistemler incelenip kendi tasarladığımız cihaz ve elektrik devreleri ile geliştirilmesi sağlanmıştır.

Jel elektroforezi, saflaştırılmış nükleik asit ve proteinlerin moleküler ağırlığı, miktarı ve alt tiplerinin saptanmasında yaygın olarak kullanılan moleküler bir inceleme yöntemidir.

Elektroforetik analiz elektriksel bir alanda, ortamda çözünmüş moleküllerin elektrik yüklerine göre göç etmeleri prensibine dayanır. Bu göç hızı molekülün büyüklüğüne, yapısına, ortamın yoğunluğuna, iyonik kuvvete ve uygulanan akıma bağlı olarak değişmektedir.

Eksi yüklü moleküller (anyonlar) artı yüklü elektroda (katoda), artı yüklü moleküller (katyonlar) ise eksi yüklü elektroda (anoda) hareket eder.

Kullanılan molekülün jel üzerindeki yerini belirlemek için ortamda UV ışığı altında floresan etki gösteren etidyum bromürün (EB) veya benzeri bir boyayıcı maddenin bulunması gerekmektedir.

Agaroz deniz yosunlarından elde edilen bir şeker molekülü zinciridir. Üreticiler bilimsel çalışmalar için özel toz formlar yapar ve oldukça pahalıdır.

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Lineer Deoksiribonükleik Asit Moleküllerinin Ayrımı için Tavsiye Edilen Agaroz Jel Konsantrasyonu.....	14
Tablo 2:Doğrultucuların Zaman Grafiği.....	16
Tablo 3:Doğrultucuların Yapısı.....	17

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Arne Tiselius- Protein-Elektrolit Solüsyonunun Oldu u “U” Biçimdeki Kuartz Boru ekli.....	5
Resim 2: Elektroforez Sistemi.....	6
Resim 3:Poliakrilamid Jel Elektroforezi.....	8
Resim 4 : Ka ıt Elektroforezi.....	9
Resim 5 :Kapiller Elektroforezi.....	10
Resim 6 :Tampon Çözelti Tankı.....	13
Resim 7 : Güç Kayna ı Elemanları.....	17
Resim 8-9-10 : Tasarım Tank A amaları.....	19
Resim 11-12-13: Deney A amaları.....	22-23
Resim 14 : Jel Dökme Tankı.....	23
Resim 15 : Agaroz Jel.....	24
Resim 16-17:Jel Kuyucuklarına DNA yüklenmesi.....	24
Resim 18 :Deney Sonu.....	25
Resim 19 : UV’de Yürütülen DNA ‘nın görüntülenmesi.....	25

Ç İNDEK İLER

ET K.....	i
TE EKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
TABLO L İTES	iv
RES M L İTES	v
BÖLÜM 1:G İR	1
BÖLÜM 2 : ELEKTROFOREZ İN TANIMI.....	4
2.1.Elektroforezin Tarihçesi.....	5
2.2.Elektroforez çe itleri.....	6
2.3.Çalı ma Prensipleri.....	6
2.4..Agaroz Jel Elektroforezi.....	7
2.5.Poliakrilamid Jel Elektroforezi.....	7
2.6.Ka ıt ve Selüloz Asetat Elektroforezi.....	9
2.7.Kapiller Elektroforez.....	9
2.8.Ara tırmanın Amacı.....	10
2.9.Elektroforezin Kullanım Alanları.....	11

BÖLÜM 3: MATERYAL VE METHOD

3.1. Materyaller.....	12
3.1.1. Agaroz.....	12
3.1.2. Tamponlar.....	12
3.1.2.1. Elektroforez Tamponu.....	13
3.1.2.2. Agaroz Konsantrasyonu.....	14
3.1.2.3. Yürütme tamponu.....	14
3.2. Cihazlar & Aletler.....	15
3.3. Güç Kayna 1.....	15
3.3.1. Elektrik devresi için kullanılanlar.....	15
3.3.2. Do rultucu.....	16

BÖLÜM 4: TASARIM.....19

BÖLÜM 5: TARTI MA VE DENEY.....21

5.1. Elektroforezin Deney A amaları.....	21
5.2. Agaroz Jel Hazırlanması.....	21
5.3. Jel Dökme Standının hazırlanması.....	23
5.4. Örneklerin Agaroz Jel Kuyularına Yüklenmesi.....	24

BÖLÜM 6: SONUÇ.....26

BÖLÜM 7: KAYNAKÇA27

BÖLÜM 8 : EK RES MLER.....28

BÖLÜM 1

G R

Jel elektroforezi, makromolekülleri büyüklük, elektrik yükü ve diğer fiziksel özellikler temelinde ayıran bir yöntemdir. Elektroforez (electrophoresis) terimi yüklü partiküllerin elektrik akımı etkisi altında hareketini açıklamaktadır. Elektro (electro) elektrik gelir, forez (phoresis) anlamı taşıyan geçirmek/taşımak olan Yunanca bir kelimedir. Jel elektroforezi elektrik varlığında hareketlenen moleküllerin jel boyunca taşıma hareket ettiği bir tekniği tanımlar. Elektroforez için gerekli güç, jelin iki ucunda bulunan elektrotlara uygulanan voltajdır. Bir elektrik alanının bir molekülü hangi hızla jel ortamında hareket ettirdiği, molekülün özelliklerine bağlıdır.

Birçok önemli biyolojik makromolekül (örneğin amino asitler, peptitler, proteinler, nükleotidler ve nükleik asitler) iyonlaşabilen gruplara sahiptir ve pH'ya bağlı olarak çözüldüğü kation (+) ya da anyon (-) biçiminde, elektrik yükü taşıyan türler olarak bulunurlar. Net yükün özelliğine bağlı olarak, yüklü partiküller katoda veya anoda doğru hareket edecektir. Örneğin, elektrik alanının uygulandığı jel nötral pH'da ise, DNA'nın negatif yüklü fosfat grupları anoda doğru hareket eder (Westermeier, 1997).

Agaroz jel elektroforezi DNA moleküllerinin ayrımı, tanımlanması ve saflaştırılması için kullanılan standart bir yöntemdir. Teknik basit, hızlı ve diğer prosedürlerle ayrılmayan DNA fragmanlarını çözebilme yeteneğindedir. Ayrıca DNA'nın jeldeki konumunu, düşük konsantrasyonlarda floresan veren etidiyum bromid ile boyayarak belirlemek mümkündür. Takip eden bölüm, agaroz jel elektroforezinin hazırlanması için fiziksel ilkeleri, bileşenleri (jel matrisi, tampon, yükleme tamponu ve markör) ve prosedürü açıklayacaktır (Sambrook 1989). Agaroz jel elektroforezinin fiziksel özellikleri nükleik asitlerin ve proteinlerin ayrılması için kullanılan bir tekniktir. Makromoleküllerin ayrılması iki değişkene bağlıdır: yük ve kütle. DNA gibi biyolojik bir örnek bir tampon çözeltiye karıştırıldı ve jele uygulandı zaman bu iki değişken birlikte rol oynar. Bir elektrottan gelen elektrik akımı, molekülleri iterken aynı anda diğer elektrot molekülleri kendine doğru çeker. Jeldeki sürtünme kaynaklı ayırma gücü molekülleri büyüklüklerine göre ayırarak "moleküler elek" görevi yapar. Elektroforez sırasında makromoleküller, jelin porlarında hareket etmeye zorlanır. Elektrik alanı altında hareket oranları şu faktörlere bağlıdır:

- Alanın gücü
- Moleküllerin büyüklüğü ve şekli
- Örneklerin göreceli hidrofobisitesi
- Moleküllerin içinde hareket ettiği tamponun iyonik kuvveti ve sıcaklığı

Elektroforezle ilgili basit denklemlerin incelenmesi, jel elektroforezinde yüklü partiküllerin ayrılmasının tam olarak anlaşılması açısından önemlidir. Elektrotlara voltaj uygulandığında, potansiyel gradient, E, olur ve u e itlikle açıklanabilir :

$$E = V / d \quad (1)$$

V, uygulanan voltaj ve d elektrotların cm olarak birbirinden uzaklığıdır.

Potansiyel gradient, E, uygulandı ı zaman, yüklü moleküller üzerinde bir güç, F, olur ve u e itlikle açıklanır :

$$F = E q \quad (2)$$

q molekül üzerindeki yüküdür (Coulomb). Bu güç Newton cinsinden ölçülebilir ve yüklü molekülün elektroda doğru hareket etmesini sağlar.

Aynı zamanda yüklü moleküllerin hareketini yavaşlatan, sürtünmeden doğan bir direnç vardır. Bu direnç fonksiyonları :

- Molekülün hidrodinamik büyüklüğü
- Molekülün şekli
- Elektroforez için kullanılan ortamdaki por büyüklüğü
- Tamponun yoğunluğudur.

Elektrik alanında yüklü moleküllerin hızı (v) potansiyel gradient, yük ve sürtünme gücünün bir fonksiyonudur ve u e itlikle açıklanabilir:

$$v = E q / f \quad (3)$$

f sürtünme katsayısıdır.

Bir iyonun elektroforetik hareketi, M, iyon hızının potansiyel gradiente bölünmesi biçiminde gösterilir

$$M = v / E \quad (4)$$

Buna ek olarak e itlik 3'te görüldüğü gibi elektroforetik hareket M, molekül yükünün q , sürtünme katsayısı f 'e bölünmesi biçiminde de gösterilebilir

$$M = q / f \quad (5)$$

Potansiyel gradient uygulandığında farklı yüklü moleküller farklı elektroforetik hareketliliğe (M) bağlı olarak ayrılmaya başlayacaktır.

Elektroforetik hareketlilik yüklü grubun pK de erine ve molekül büyüklü üne ba lı olarak, yüklü bir molekülün önemli ve karakteristik bir parametresidir. Farklı sürtünme kuvvetlerine maruz kalacaklarından, aynı yükü ta ıyan moleküller dahi farklı molekül büyüklükleri sebebi ile ayrılmaya ba layacaktır.

Lineer çift zincirli DNA, jel matrislerinde baz çiftlerin sayısının log10'una ters orantılı ekilde hareket eder. Daha büyük moleküller daha fazla sürtünme engeli ile kar ıla ırlar ve jelin porlarında daha etkisiz bir ekilde hareket ettikleri için daha yava tırlar.

Çözeltideki elektrotlar arasındaki akım, ço unlukla tampon iyonlar tarafından iletilirken, çok az bir bölümü de örnekteki iyonlar tarafından iletilir. Akım I, voltaj V ve direnç R arasındaki ili ki Ohm Kanunu'nda öyle gösterilir:

$$R = V / I \quad (6)$$

Bu denklem, R direnci için uygulanan V voltajını arttırarak elektroforetik ayrı tırmanın hızlandırılabilce ini gösterir. Bu da I akımında bir artı la sonuçlanır. Kat edilen uzaklık hem akım hem de zamanla orantılı olacaktır. Ancak, V voltajındaki artı ve buna ba lı olarak I akımındaki artı , ço u elektroforez türünün ba lıca problemlerinden biri olan ısı olu umuna yol açar. Bu durum, elektroforez sırasında olu an Watt olarak ölçülen W gücünün, direnç ile akımın karesinin çarpılması biçiminde hesaplandı ı u denklemle gösterilir:

$$W = I^2 R \quad (7)$$

Elektroforez i leminde üretilen gücün büyük bölümü ısı olarak da ılaca ı için u zararlı etkiler ortaya çıkabilir:

- Ayrı tırılan örneklerin yayılmasına neden olan tampon iyonlarının ve örne in difüzyon oranında bir artı ,
- Ayrı tırılmı örneklerin karı masına neden olan konveksiyon (ısıyayım) akımlarının olu umu,
- Isıya duyarlı olan örneklerde intabilizasyon (örne in DNA'nın denatürasyonu),
- Tampon yo unlu unda azalma ve buna ba lı olarak ortam direncinin dü mesi.

BÖLÜM 2

ELEKTROFOREZİN TANIMI

Yüklü moleküllerin bir elektriksel alan uygulandığında, sıvı içeren bir ortamda hareket hızlarının ölçüldüğü bir yöntemdir. (Ek Resimler 1)

Elektroforetik sistemde analizi yapılacak örnek bir destek ortamına uygulanır. Modern elektroforetik tekniklerde destek ortamı olarak daha çok jeller tercih edilmektedir. Jeller içine uygun tampon yerleştirilerek işlem gerçekleştirilir.

Makro molekülleri (özellikle nükleik asit ve proteinleri) birbirinden ayırmak bazen saflaştırmak için kullanılır. Molekülleri büyüklük, yük ve konformasyonlarına göre ayırmaya yarar. Analiz edilecek örnek jelle bir leke ya da ince bir bant halinde uygulanır. Katı jel desteği ile ayrımı yapılacak moleküllerin hareketi, moleküllerin yüküne boyutuna, biçimine, kimyasal içeriğine ve uygulanan elektriksel alana bağlıdır.

Oldukça hızlı ve kullanışlı bir teknik olan elektroforezin bir homojenattaki molekülleri ayırma kapasitesi genellikle fazla yüksektir. Bu nedenle bu teknikten preparatif olarak sınırlı ölçüde yararlanılmaktadır. Buna karşılık az miktardaki protein ya da nükleik asit karışımlarını (ayrıca nükleoprotein ve polisakkarit karışımlarını) saflaştırmakta ve analiz yapmakta yaygın olarak kullanılır.

Elektroforez Aygıtlarında ki Temel Elektriksel Önem Taahhütleri :

- 1- Ohm yasasına göre, elektrik alanı, akım ile direncin çarpımına eşittir. Elektroforez aygıtında oluşan direncin hemen hemen tamamı jel tarafından oluşturulur. Direnç, akımın geçtiği bölgenin alanının ve kullanılan tamponun iyonik kuvveti ile ters orantılıdır. Belli bir akım için, jelin kalınlığının veya tamponun miktarının ve iyonik kuvvetinin azalması direnci artırır; böylece jel boyunca oluşan voltaj derecelenmesi ve jelle uygulanmış molekülün elektroforetik göç hızı artar.
- 2- Sistemin ürettiği güç direnç ile akımın karesinin çarpımına eşittir. Üretilen güç ısı şeklinde ortaya çıkar ve elektroforez aygıtı, jelin sıcaklığını artırmaksızın ancak belli miktarda gücü dağıtabilir. Bu nedenle voltajın üst sınırı genellikle elektroforez aygıtının ısıyı dağıtma yeteneğine bağlıdır.

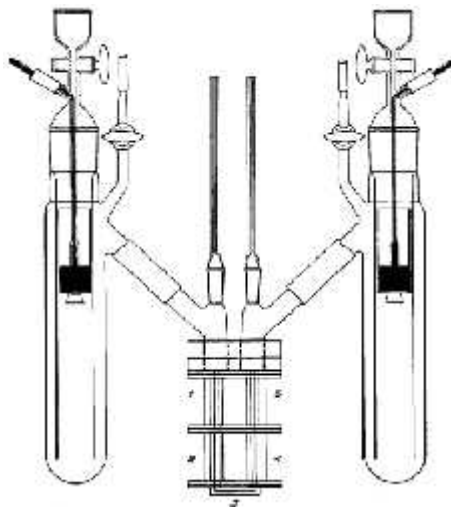
2.1. ELEKTROFOREZ N TAR HÇES

Bu ayırma yöntemi ilk olarak sveçli kimyacı Arne Tiselius tarafından serum proteinleri üzerinde çalı ırken bulunmu ve bu çalı madan dolayı kendisi 1948'de Nobel Ödülü ile ödüllendirilmi tir. Elektroforezin kapillerde gerçekte tirilmesinin avantajları 1980'lerin ba larında Jorgenson ve Lukas'ın çalı maları ile belirginle mi tir.

1937'de tanımlanan serbest solüsyon elektroforezi,frontal elektroforez veya “moving boundary” elektroforezidir. Tiselius bir elektrolit solüsyonunda çözünmü olan proteinleri, protein-elektrolit solüsyonunun bulundu u “U” ekindeki kuartz bir borunun(Resim 1) içinden elektrik akımı geçirerek ayırmı tır.

pH 7.6'da albumin, , ve olarak isimlendirilen 4 serum protein fraksiyonunu saptamı ve bu bandların sınırları arasındaki absorbans de i ikli ini optik olarak ölçmü tür. Bu teknik hala elektroforetik mobilite ve protein-protein etkile imi ile ilgili ara tırmalarda kullanılmaktadır; fakat,klinik laboratuvarlarda rutin çalı malar için kullanılmaz, kompleks bir araç gerektirir,teknik zordur ve 0.5 mL örnek gerektirir.

En yaygın elektroforez uygulamaları, serum proteinleri, hemoglobinler ve izoenzimleri içerir. zoenzimlerden ise, CK, LDH ve ALP en yaygın olarak kullanılmaktadır. Piyasadaki yaygın elektroforez enstrüman üreticileri Beckman Instruments, Helena Laboratories ve Sebia Laboratories'e ait olanlardır.



Resim 1: Arne Tiselius- Protein-Elektrolit Solüsyonunun Oldu u “U” Biçimdeki Kuartz Boru ekli

2.2.ELEKTROFOREZ ÇEŞİTLERİ

KLASİK YÖNTEM

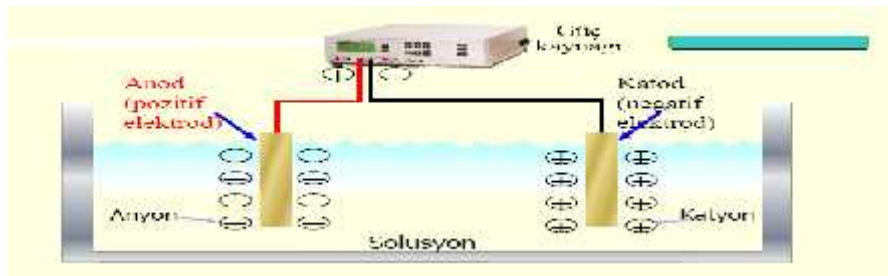
1. Kağıt elektroforezi
2. Selüloz asetat elektroforezi
3. Jel elektroforezi
 - a. Poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE)
 - b. Agaroz jel elektroforezi

KAPILLER ELEKTROFOREZ

1. Kapiller Bölge Elektroforezi (CZE)
2. Kapiller Jel Elektroforezi (CGE)
3. Kapiller zoelektrik Odaklama (CIEF)
4. Kapiller zotakofrez (CITP)

2.3.ÇALIŞMA PRİNSİBİ

Makro molekülleri(özellikle nükleik asit ve proteinleri) birbirinden ayırmak bazen saflaştırmak için kullanılır. Molekülleri büyüklük, yük ve konformasyonlarına göre ayırmaya yarar. Biyokimya ve moleküler biyolojide uygulanan en yaygın yöntemdir. Eksi yüklü moleküller(anyonlar) artı yüklü elektroda (katoda), artı yüklü moleküller(katyonlar) ise eksi yüklü elektroda (anoda) hareket eder. Elektroforezde tampon sistem kullanılır ve bir ortam(kağıt,selüloz asetat,nitro selüloz,agaroz jeli ya da poliakrilamid) ile bir doğru akım kaynağı gerekir. (Resim 2)(Ek Resimler 2)



Resim 2: Elektroforez Sistemi

2.4. Agaroz Jel Elektrofrez

Serum proteinleri, hemoglobin varyantları, LDH izoenzimleri, lipoprotein fraksiyonları ve di er maddelerin analizi için ba arıyla uygulanmaktadır.

Agaroz sıcak suda çözünür, so utuldu u zaman, kar ılıklı hidrojen ba larının olu umu ile jel yapısı olu ur. Bu olu um geri dönü ümlüdür. 200-50,000 bç boyutları arasındaki DNA ve RNA moleküllerini tanımlamakta kullanılan standart yöntem agaroz elektrofrezidir.

Agaroz bir alg türünden elde edilir. Jel elektrofrez tanponuna koyulmu agarozun yüksek sıcaklıkta çözündürülmesi ile hazırlanır. Kaynatılmı agaroz çözeltisi 50 dereceye kadar so utularak jel tepsilerine dökülür.

Ayrımı yapılacak örnek taraklarla olu turulmu kuyucuklara yüklenir ve elektriksel alanda yürütülerek ayrımı yapılır. Jel uygun ekilde hazırlanırken ya da örnekler yüklenip elektriksel olarak ayrıldıktan sonra boyanır ve örneklerin görüntülenmesi gerçekte tirilir.

Nükleik asitlerin agaroz jeldeki hareketleri agaroz konsantrasyonu ile nükleik asit moleküllerinin boyutları ve eklinden etkilenir. Nükleik asitlerin ayrımı için en etkin agaroz konsantrasyonları %0,3-2,0 dir. Agaroz jel elektrofrez ile özellikle de i ik kaynaklı DNA nın izole edildikleri veya enzim kesim ürünlerinin molekül a ırlıkları ve miktarları belirlenebilir. Aynı zamanda proteinlerin yüklerine göre ayrılmasında da kullanılmaktadır.

2.5. Poliakrilamid Jel Elektrofrez

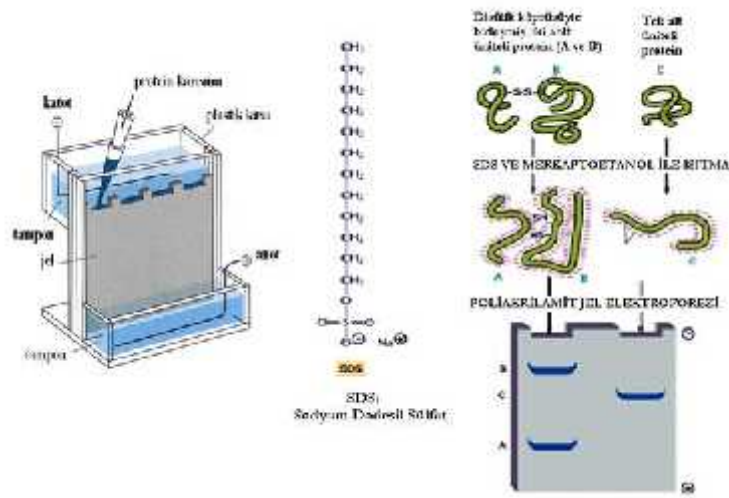
En yaygın kullanım alanı olan elektrofrez tipidir. Jel sentetik bir madde olan akrilamid ile akrilamid türevi olan N-N'-metilen bisakrilamidin polimerle mesiyle olu turulur ve örnekler bu jel üzerinde yürütülür. Proteinler için çok uygun oldu u gibi DNA ve RNA elektrofrezleri için de kullanılabilir. Akrilamid miktarı ve akrilamid/bisakrilamid oranı jelin ayrı tırma kapasitesini belirler. Akrilamid / bisakrilamid oranı yükseldikçe jellerde ısınma fazlala ır, kırılgnlık artar, daha kolay yıkanır. (Resim 3)

Akrilamidin polimerizasyonu ile hazırlanan poliakrilamid jellerin elektrofretik ayırımlarında çe itli üstünlükleri vardır.

Küçük ya da orta boydaki (yaklaşık 1 milyon dalton kadar) nükleik asitler ve proteinler için yüksek ayrıştırma gücüne sahiptir.

Göç eden moleküllerle destek materyali arasındaki etkileşim minimum düzeydedir. Destek materyali fiziksel olarak oldukça kararlı ve dayanıklıdır.

Poliakrilamid jeller akrilamid ve çapraz bağlayıcı N,N'-metilen-bis akrilamidin serbest radikal polimerizasyonu ile hazırlanır. Kimyasal polimerizasyon bir başlatıcı-katalizör (amonyum persülfat/TEMED) sistemi tarafından kontrol edilir. Fotokimyasal polimerizasyon, UV ışık altında riboflavin tarafından gerçekleştirilir.



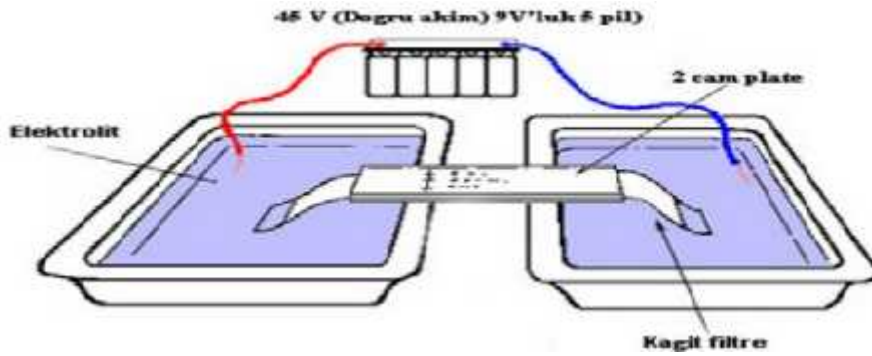
Resim 3: Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi

Proteinlerin ayrılması için kullanılan jeller genelde %7,5 poliakrilamid içerir. Bu jeller 10.000-1000,000 Da moleküller için kullanılabilir ama en iyi çözünme 30,000-300,000 Da arasında elde edilir. Bir jelin ayrıştırma gücü ve molekül boyutu aralığı akrilamid ve bis akrilamid konsantrasyonuna bağlıdır. Kimyasal maddenin polimerizasyonu ile jelde porlar oluşur.

Düşük konsantrasyonda daha büyük porlar oluşur ve yüksek molekül ağırlıklı biyolojik moleküllerin analizi yapılabilir. Yüksek konsantrasyonlarda ise küçük porlar oluşur ve düşük molekül ağırlıklı moleküllerin ayrılması yapılır.

2.6.Ka ıt ve Selüloz Asetat Elektroforezi

Ka ıt tampon çözelti ile doyurulduktan sonra, iki ucu tampon çözeltiye batacak şekilde gerilir. Örnek madde ka ıt üzerine genellikle bir çizgi halinde sürülür. Kurumaması için ka ıt hem üstten kapatılır hem de bir su deposu üstünde tutulur. Gerilim uygulandıktan sonra bir süre bekletilir, süre tamamlandı ında ka ıt çıkartılır, kurutulur ve analiz edilir.(Resim 4)



Resim 4: Ka ıt Elektroforezi

2.7.Kapiller Elektroforez

Kapiller, ince çaplı ve ince duvarlı damarlardır. Çeperleri yarı geçirgendir. Arterlerin dokulara ula tı ı en ince uçlarına arter kapilleri, venlerin ba langıç yaptı ı en ince uçlarına ven kapilleri denir.

Çözelti içindeki partiküllerin elektriksel alan etkisi altında göç etmesi prensibine dayanan yeni ve güçlü bir analitik ayırma tekni ine ise kapiller elektroforez denir.(Resim 5)

Fiziki temelleri di er elektroforezlerle aynı olmasına kar ın, teknik ve gerektirdi i ekipman çok farklıdır.

Duyarlılı ı, test maliyetinin dü üklü ü, otomasyona uygunlu u, test çe itlili i gibi avantajlarıyla kapiller elektroforez, küçük çaplı (25-75 µm),100 cm. uzunlu unda 'fused' silika kapiller boru kullanılarak gerçekleştirilen bir yöntemdir.

Tipik bir sistem, ince silika kapiller bir boru, iki elektrolit tampon haznesi, bir yüksek voltaj güç kaynağı ve bir veri de erlendirme birimiyle ilikili detektörden oluşmaktadır. Dar çaplı tüplerde çalışmanın avantajı, diğer elektroforetik yöntemlerde oluşan ısının ortadan kaldırılması olmasıdır. Normal jeller için kullanılan max voltaj 15-40 V/cm iken, kapiller elektroforezde 800 V/cm gibi yüksek bir akım uygulanabilir. Böylece DNA'yı jelde yürütme süresi saatlerden dakikalara düşer ve oldukça önemli bir zaman kazancı sağlanır.



Resim 5: Kapiller Elektroforez

Kapiller Elektroforez ile uyu turucu maddeler, ilaç etken maddeleri, patlayıcı maddeler, mürekkepler, inorganik anyon ve katyonlar vb. maddeler, adli amaçlarla mükemmel bir şekilde ayrıntılı olarak incelenebilmektedir.

Örne in, mürekkeplerin boyar madde bile enleri bu teknik ile tek tek ayrılarak, tükenmez kalem mürekkepleri mukayese edilebilir ve her bir boya tanımlanabilir.

2.8.Ara tırmanın Amacı

Jel elektroforezi nükleik asitlerin ve proteinlerin ayrılması için kullanılan bir tekniktir. Makromoleküllerin ayrılması iki de i kene ba lıdır: yük ve kütle. DNA gibi biyolojik bir örnek bir tampon çözeltiye karı tırıldı ı ve jele uygulandı ı zaman bu iki de i ken birlikte rol oynar. Bir elektrottan gelen elektrik akımı, molekülleri iterken aynı anda di er elektrot molekülleri kendine do ru çeker. Jeldeki sürtünme kaynaklı ayırım gücü molekülleri büyüklüklerine göre ayırarak “moleküler elek” görevi yapar. Elektroforez sırasında makromoleküller, jelin porlarında hareket etmeye zorlanır.

AMAÇ:

Elektroforezin amacı hastadan herhangi bir zamanda belirli bir miktar kan alınmasıyla beraber. Laboratuvarda elektroforez işlemi uygulanan kanın Hb A, Hb Aj ve Hb F yoğunlukları ayrı ayrı belirlenir. Bu laboratuvar incelemesi kansızlık türlerinin ayırt edilmesi açısından büyük önem taşıyan bilgiler verebildiğinden, çok sık kullanılan bir yöntem haline gelmiştir. Laboratuvara gelen kanda öncelikle anormal bir hemoglobinin bulunup bulunmadığı araştırılır. Bu amaçla anormal yapıda bir hemoglobine rastlanmazsa incelemeye son verilir; anormal yapıda bir hemoglobin bulunursa bunun yapısını aydınlatmak amacıyla bir ileri adıma geçilir. İlk adımda hemoglobin selüloz asetat ile alkali pH'a getirildikten sonra işlemi tamamlanırken, daha ileri inceleme gerektiren durumlarda hemoglobinin bazı maddelerle etkileşimi ya da nötr pH'a ulaşmak için fosfat ile tamponlanması gerekmektedir. Yapılan ileri inceleme, hemoglobin zincirlerinin yapısını ve hangi hemoglobinlerin hangi yoğunlukta bulunduğunu gösterecektir.

2.9.Elektroforezin Kullanım Alanları

- Patolojik durumların tanımlanmasında ve takibinde sıklıkla kullanılır. Serumda, dokuda, hemoglobinde ve idrarda, patolojik durumlar sonucunda ortaya çıkan normal olmayan proteinlerin varlığını, normal proteinlerin yokluğunu veya tedavi sırasında hastalığın seyrini izlemek amacıyla kullanılır.
- Son yıllarda proteomik teknolojinin, en önemli yöntemlerinden biri haline gelmiştir. Bu yöntem ile protein miktarlarındaki çok küçük değişikliklerin dahi analizi yapılabilmektedir. Böylece, patolojik durumlarda ortaya çıkan yeni proteinler kolaylıkla tanımlanabilmektedir.
- Otomatize edilmiş olması nedeniyle, biyokimya, farmakoloji, toksikoloji, adli tıp bilimlerini kapsayan çeşitli bilimsel alanlarda pratik ve yaygın bir biçimde kullanılmaktadır.
- Yasadışı ilaç kullanımı analizi için de kullanılmaktadır. KE'nin, laboratuvarlar arası yeterlilik testlerinde yasadışı eroin ve kokain testlerinde son derece güvenilir olduğu kanıtlanmıştır.
- El yapımı patlayıcıların değerlendirilmesi açısından da, patlamadan arta kalan anyon ve katyonların incelenmesini kolaylaştırarak, kullanılan patlayıcı karışımın tipini ve kaynağını saptamaya yardımcı olmaktadır.
- Saflaştırma

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1.MATERYAL

3.1.1.Agaroz

Deniz yosunundan ekstrakte edilen doğal bir kolloit olan agaroz, galaktoz ve 3,6-anhidrogalaktoz ünitelerinin ardışık olarak yer aldığı agarobioz ünitelerinin tekrarlanmasından oluşan ve moleküler kütlesi yaklaşık 12.000 Da olan lineer bir polisakkarittir. Agaroz çok hassastır ve elle dokunulduğunda kolayca bozulabilir. Agaroz jel büyük por çapına sahiptir ve temelde 200 kDa'dan daha büyük molekülerin ayrılmasında kullanılır.

Agaroz jel elektroforez için hızlıdır, fakat agaroz jellerde oluşan bantlar bulaşıkça ve dağınık meyilli oldukları için çözünürlüğü sınırlıdır. Bu por çapının bir sonucudur ve kontrol edilemez. Agaroz jel kuru toz halindeki agarozun sıvı bir tampon içine konması ve sonra karışımın, agaroz berrak bir çözeltiye dönüşene kadar kaynatılmasıyla oluşturulur. Daha sonra bu çözelti jel tepsisine dökülür ve oda sıcaklığında katılaşmaya kadar soğutulur. Katılaştıktan sonra yoğunluğu agaroz konsantrasyonuyla belirlenen bir matris oluşturur.

Agaroz doğal bir polimer olan, temel yapısı, 1,3 bağlantılı β -D-galakto-furanoz ve 3,6-1,4-ba bağlantılı α -L-galakto-furanozun dehidrasyon. Agar, pektin heterojen karışımlarından oluşan birçok küçük moleküllerden oluşur.(Ek Resimler 3)

3.1.2.Tamponlar

Jel elektroforezinde kullanılan tamponlar;

- Elektrik akımını taşımak
- Elektroforezin yürütüldüğü pH'yı belirlemek
- Yürütülen molekülün elektriksel yükünü belirlemek amaçlarıyla kullanılır.

Tamponun iyonik gücü ise ;

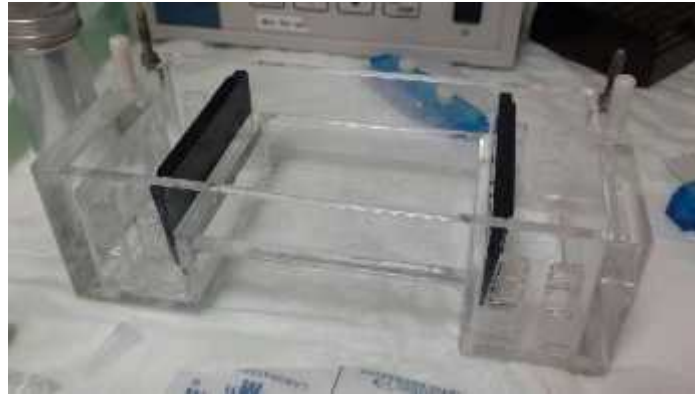
- yonik bulutun kalınlaması
- Migrasyon oranı
- Elektroforetik zonların daha keskin ayrılması
- Moleküllerin hareket etmesinde önemlidir.

3.1.2.1.Elektroforez Tamponu

DNA'nın elektroforetik hareketliliği elektroforez tamponunun kompozisyonuna ve iyonik gücüne göre değişir. İyonların yokluğunda, elektrik iletimi en düşük düzeydedir ve DNA çok yavaş hareket eder yahut hiç etmez. Yüksek iyonik güçlü bir tamponda ise elektrik iletimi çok verimlidir fakat önemli miktarda ısı oluşur. En kötü durumda bu ısı sebebiyle jel erir ve DNA denatüre olur.

Dual çift zincirli DNA elektroforezinde kullanılan tamponlar mevcuttur.(Resim 6). Bunlar genellikle EDTA (pH 8,0) ve yaklaşık 50 mM (pH 7,5-7,8) konsantrasyonunda Tris-asetat (TAE), Tris-borat (TBE), veya Tris-fosfat (TPE) içerir. Elektroforez tamponları genellikle konsantre solüsyonlar olarak hazırlanır ve oda sıcaklığında saklanır.

TBE, agaroz jel elektroforezi için başlangıçta 1x çalıştırma gücünde kullanılmıştır. Ancak, 0,5x çalıştırma solüsyonu yeterinden fazla tamponlama kapasitesine sahiptir ve artık hemen hemen tüm agaroz jel elektroforezleri bu tampon konsantrasyonu kullanılarak yapılmaktadır.



Resim 6: Tampon Çözelti Tankı

3.1.2.2 Agaroz Konsantrasyonu

Belirli büyüklükteki bir DNA parçası agarozun konsantrasyonuna ba lı olarak jel içinde farklı hızlarda hareket eder. Belirli konsantrasyondaki agaroz ve/veya tampon için 20 ile 50.000 bp arasında büyüklü e sahip bir DNA parçasını ayırmak mümkündür. Yatay jellerde agaroz genellikle %0,7 ile %3 arasındaki konsantrasyonlarda kullanılır.

Lineer DNA moleküllerinin ayrımı için tavsiye edilen agaroz jel konsantrasyonu;

% Agaroz	DNA büyüklük aralı ı (bp)
0.75	10.000-15.000
1	500-10.000
1.25	300-5000
1.5	200-4000
2.00	100-2500
2.5	50-1000

Tablo 1: DNA moleküllerinin ayrımı için tavsiye edilen agaroz jel konsantrasyonu

3.1.2.3.Yürütme Tamponu

Yürütme tamponu öncelikle agaroz jele yüklenecek DNA örnekleri, genellikle su, sakaroz ve bir boyadan (örne in ksilen siyanol, bromofenol mavi, bromokresol ye il vb) olu an yürütme tamponuyla karı tırılarak hazırlanır. Yüklenecek DNA'nın maksimum miktarı parçaların sayısına ba lıdır. Etidiyum bromid ile boyanmı bir jelin foto rafıyla belirlenebilen minimum DNA miktarı, 0,5 cm geni li indeki bir bantta, 2 ng'dır. Bu geni likteki bir bantta 500 ng'dan daha fazla DNA varsa kuyucuk a ırı yüklenecektir ve bu da bulanıklı a yol açacaktır. (Ek Resimler 4)

Yürütme tamponunun üç görevi vardır:

- Örne in yo unlu unu arttırarak DNA'nın kuyuya e it bir ekilde yayılmasını sa lamak.
- Örne e renk katmak ve bu sayede yükleme i lemini basitle tirmek.

- Elektrik alanında tahmin edilebilir bir hızda anoda doğru hareket eden örnekler renk vermek.

3.2.C HAZIRLAR VE ALETLER

1)Elektroforez Tankı

2)Güç kaynağı

3)Mikrodalga fırın (lecla marka)

4)Mikropipet

5)Laboratuvar Tüpleri

6)Transillüminatör(uv)(herolab marka)

7)Plastik Tarak(jel üzerindeki kuyucukları oluşturmak için kullanılır)

(Ek Resimler 5-6-7-8)

Kimyasal Malzemeler:

1 gram Agaroz($C_{24}H_{38}O_{19}$)

50-60 ml TBE(tris borat)

2 ml Etidyum Bromür (EtBr)($C_{21}H_{20}BrN_3$)

3.3.GÜÇ KAYNAĞI

3.3.1.Elektrik devresi için kullanılanlar

Güç kaynağı, genel tanımıyla, bir enerji üreticisidir. Elektrotlar arasında elektrik akımı sağlar.

- Göç hızının artması,

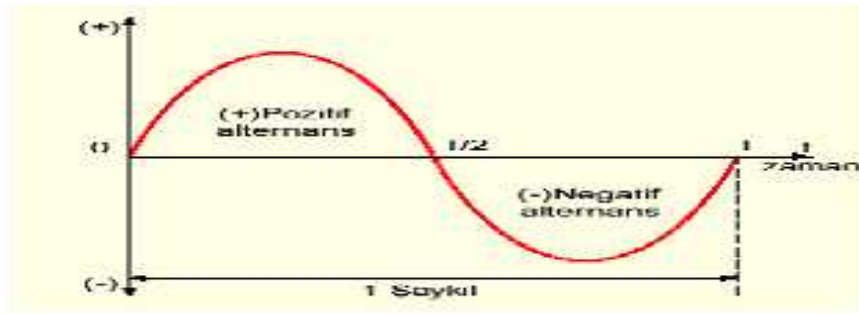
- Ayırt edilen moleküllerin buharlanması,

- Su kaybı,
- yon konsantrasyonunun artması,
- Tampon viskozitesinde azalma direncinin dümesi,
- Bu problemleri en aza indirmek için: sabit akımlı güç kaynağı kullanılmalıdır.

3.3.2.Do rultucu

AC gerilimi DC gerilime çeviren güç kaynaklarıdır.

Elektronikte kullanılan do rultucuların yararlandığı AC gerilim, şehir şebekesinden alınan 220 Volt luk gerilimdir. Bu gerilim sinüzoidal olarak değişmektedir.



Tablo 2: Do rultucuların Zaman Grafiği

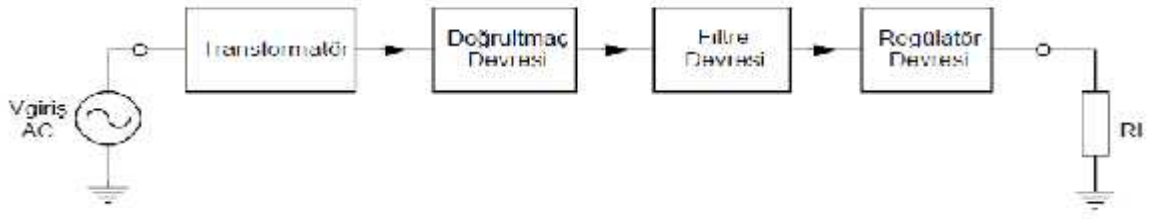
Do rultucuların Yapısı:

Transformatör: 220V ihtiyaç duyulan AC gerilime dönüştürülmesini sağlar.

Do rultma Devresi: AC gerilimi DC gerilime çeviren devredir. Bu DC gerilim, sinüzoidal değişimin tek yönlü halidir.

Filtre Devresi: Dalgalanması mümkün olduğu kadar az DC gerilim olmasını sağlar.

Regülatör Devresi: Tam do rultulmuş DC gerilim olmasını sağlar.



Tablo 3:Do rultucuların yapısı

Güç kayna ımızda kullandı ımız devre elemanları a a ıda verilmi tir.

ndüktör=100 uH

Diyot=ES2F

C1 ve C3 kondansatörleri=100 nF 50 V,C2 kondansatörü=10 uF 250 V,C4

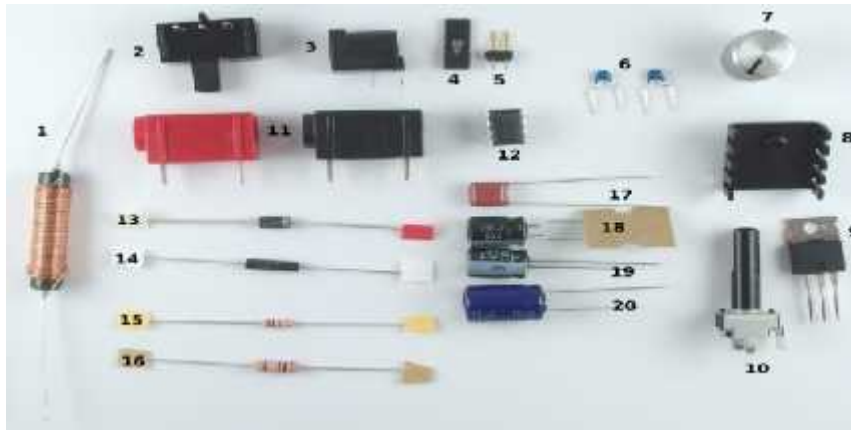
kondansatörü=100 nF 50 V,C5 kondansatörü=4.7 uF 250 V,C6 kondansatörü=100 nf 250 V

Potansiyometre=50 K

R1 direnci=0.01 ohm 1 W,R2 direnci=1M ½ W,R3 direnci=15 K 1W,U1

entegersi=MAX1771,T1 transistörü=IRF644,Switch=CKC5102

Resim 7'de güç kayna ımızda kullanılan elemanları görebilirsiniz.



Resim 7: Güç Kayna ı Elemanları

Güç kaynaımızın devresinde 100uH'lik indüktör kullanılmı tır. Bu indüktör devre için gerekli olan akımı sağlamaktadır, gerilimi istenilen seviyeye düşürmektedir.

Devrede kullanılan diğer elektronik malzeme diyottur. Devrede kullanılan diyet devreye gelen AC gerilimi DC gerilime çevirmek için yarım dalga doğrultma yapan (bir tane diyet kullanıldı ı için) elektronik malzemedir, akımı (+) alternansta geçirirken (-) alternansta geçirmemektedir. Devrede kullanılan diğer bir malzeme kondansatördür.

Kondansatör devrede filtreleme işlemi yapmaktadır. Diyottan geçen (+) alternansı filtreleme yaparak gerilimin daha düzgün bir hala gelmesini sağlamaktadır. Deneyimizde 25-100 V gerilime ihtiyaç duydu umuz için güç kayna ı devresinde MAX1771 entegresi kullanılarak yükselteç devresi kullanılmı tır.

Devreye paralel olarak bağlanan potansiyometre ile de istenilen gerilim ayarı yapılmaktadır. Ayrıca devre üzerinde kısa devreleri önlemek için kısa devre koruma devresi mevcuttur. (Ek Resimler 9-10)

Devre elemanlarını yerle tirmeden ve lehimlenmeye başlamadan önce baskı devre plaketinin bakır yolları gözle ve bir avometre ile kontrol edilmelidir.

Elektrolitik kondansatörlerin kutuplu oldu u için polaritelerine, diyetlerin anot-katot uçlarına ve regüle entegrelerinin giri , çıkı uçlarına dikkat etmek gerekir. Elektrolitik kondansatörler plakete iyice oturtularak monte edilmelidir. Hareket etmesi, içeriden baca ının kırılmasına neden olabilir.

Potansiyometre kablo bağlantısı kolay olacak şekilde monte edilmelidir.

Anahtar, açık-kapalı (I-O) olmak üzere iki konumludur.

Lehimleme yapılırken lehimle ilgili tüm kurallara uyulması gerekmektedir. Lehim yapılırken so uk ve çatlak lehim olmamasına dikkat edilmeli, iki yüzey de iyice ısıdıktan sonra lehim yapılmalıdır.

Lehimin kendili inden da ıldı ı gözlenmelidir. Lehim so urken devre elemanları hareket ettirilmemelidir.

BÖLÜM 4

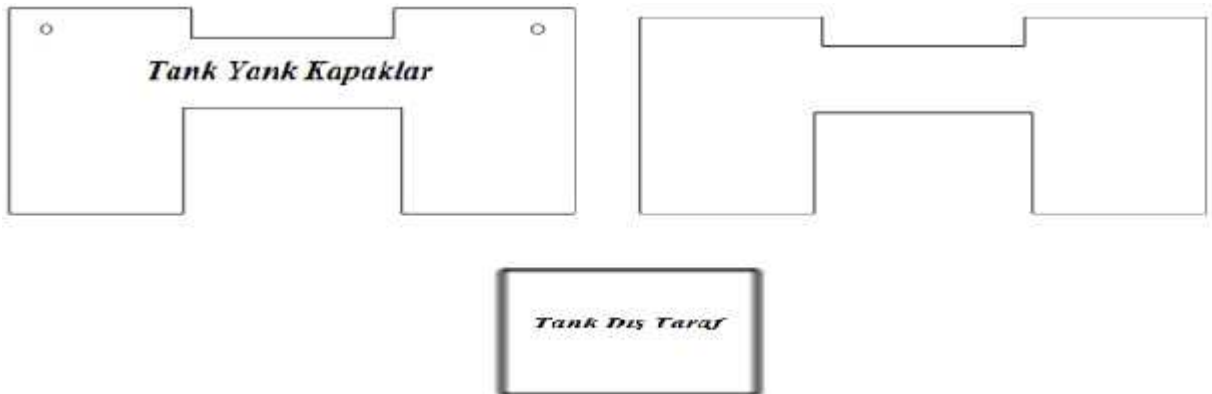
TASARIM

Ara tırmalarımız sonucunda uygun olan konseptin ve eklemlerinin doğrultusunda belirlediğimiz boyutlar neticesinde sağlamlık, dayanıklılık ve kullanışlı olması açısından “mika” malzemesi kullanmaya karar verdik. Parçalarımızın boyutlarını, kalınlıklarını oranlarken denememize yardımcı olması açısından uygulama kısmında parçalar kullandık.(Resim 8)



Resim 8: Tasarım Tank A amaları

Doğru sonuca daha garanti bir şekilde ulaşmak adına belirli çizimler yaptık.(Resim 9)



Resim 9: Tasarım Tank A amaları

Parçalarımızı yapı tırırken ara tırma sonucunda effaf silikon kullandık, tankımızın içine konulacak kimyasal sıvılarla etkile im durumu olmadı ndan ve elektri i iletmedi inden tasarımıımızı dikkatli bir ekilde adım adım parçaları birle tirerek sonlandırdık.(Resim 10)

Tasarım a amasında kullanılan yapı tırıcı çok önemlidir. E er çok güçlü bir yapı tırıcı kullanılsaydı yapılan en ufak hatada parçaları yerinden çıkarmak çok güç olurdu. Mika parçaları her ne kadar sa lam parçalar olsa dahi kırılabilir. Yapı tırıcının kuvvetli olması durumunda yeniden düzen yapmak mümkün de ildir.

E er ba ka yapı tırıcılar kullanılmak istenirse jel ve çözelti ile etkile im yapmayaca ndan emin olunmalıdır.

Silikon kullanılmasının amacı yapılan yanlı yapı tırmanın geri dönü ünün olmasıdır.

Mika parçaları silikon ile yapı tırıldıktan sonra donan kısımları temizlenmelidir.

Mika parçaları do ru yapı tırıldıktan sonra sızdırma yapmaması için silikon üzerinden bir kat daha gidilebilir.



Resim 10: Tasarım Tank A amaları

*Ek resimler bölümünde daha fazla resim bulunmaktadır.(12-13-14)

BÖLÜM 5

TARTI MA VE DENEY

5.1.Elektroforezin Deney A amaları

Uygulama ve yürütme:

Tekni e, süreye ve analizin çe idine göre de i ebilir.

Boyama:

Sadece incelenecek maddeyi boyayan boyalar kullanılır.

Temizleme:

Normalde destek ortamı boya içine kondu unda tamamen boyanır. Ancak biz sadece incelenecek kısmın boyalı kalmasını isteriz. Bu nedenle de destek ortamı belli bir temizleme sıvısında bir süre tutulur. (% 5 asetik asit)

effafla tırma:

Dansitometre de okuma yapılabilmesi için destek ortamının effaf olması gerekir. Bunun için %30-40 dimetil sülfoksit veya di er effafla tırıcılar kullanılabilir.

De erlendirme:

Dansitometre de yapılır.

5.2. Agaroz Jel Hazırlanması

- %2'lik agaroz jel hazırlamak için toz halindeki agarozdan hassas laboratuvar tartısında 1 gr tartılır. 50 ml Tris Borat çözeltisi içerisine konulur. Bu ölçüm yapılırken litre seviyesini gösteren laboratuvar tüpü kullanılır.(Resim 11)



Resim 11:Deney A amaları

- Mikrodalga fırında agaroz tamamen eriyene kadar kaynatılır. Bu i lemin sebebi agarozun Tris Borat çözeltisi içerisinde tamamen çözünmesini sa lamaktır. (Resim 12)



Resim 12:Deney A amaları

- Elle dokunulabilir sıcaklı a gelinceye kadar so utulur ve içerisinde son konsantrasyonu 0.5 µg/ml olacak ekilde 2 ml etidyum bromür eklenir. Etidyum bromür jelin muhafazası için önemlidir. Etidyum Bromür jelin ph de erini uzun süre koruyabilir. Etidyum bromürün bir di er etkisi ise boya ile karı tırılan DNA'nın UV 111 altında gözlemlenebilmesini sa lar. (Resim 13)



Resim 13: Deney A amaları

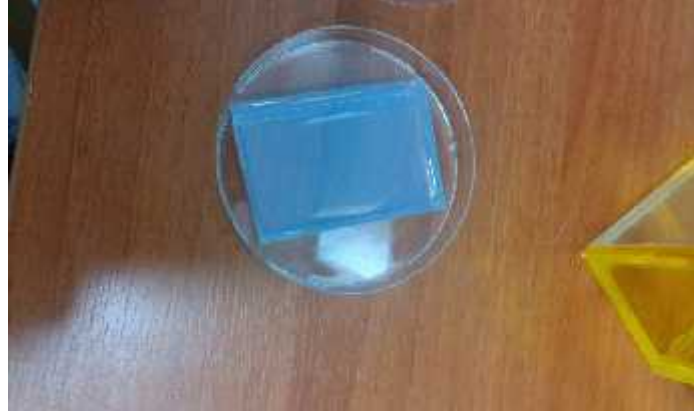
5.3.JEL DÖKME STANDININ HAZIRLANMASI

- Jel tarakları elektroforez tankında jelde düzgün bölmeler olu turacak konuma yerle tirilir. Taraklar jel üzerinde DNA ve boyaları içerisinde koyabilece imiz kuyucukları olu turur. Kullanılan taraklar plastik malzemedendir. (Resim 14)



Resim 14: Jel Dökme Tankı

- 3-5 mm kalınlı ında bir jel dökülür. Dökülen jel kimyasal maddeler içerdi i için eldiven kullanılmalıdır. Jeli tank kısmına yerle tirirken jelin zarar görmemesine dikkat edilmelidir. (Resim 15)

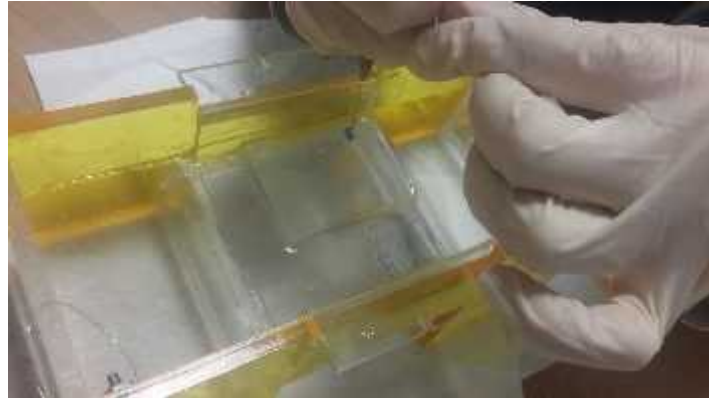


Resim 15:Agaroz Jel

- Jelde hava kabarcı ı olmamasına dikkat edilir. E er hava kabarcı ı varsa mikropipet ucu ile uzakla tırılır.
- Tamamen donduktan sonra taraklar kuyucukların bozulmamasına özen gösterilerek çıkartılır ve jel içerisinde Tris Borat çözeltisi bulunan tanka aktarılır.
- Tampon çözeltisinin agaroz jeli 1mm geçmesi yeterlidir.(Ek Resim 11)

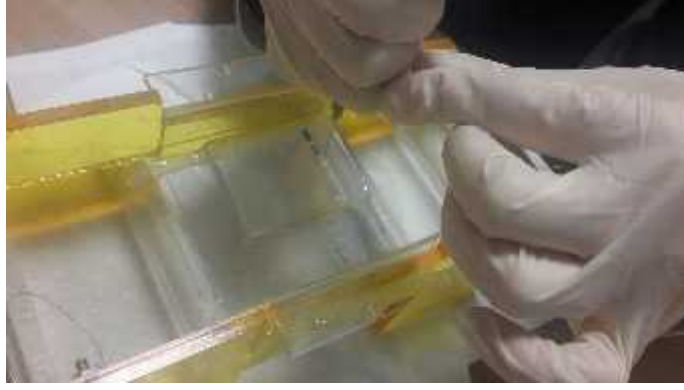
5.4.ÖRNEKLER N AGARUZ JEL KUYULARINA YÜKLENMES

- İlk kuyuya DNA standartı yüklenir. Yükleme i lemi sırasında kullanılan pipetin jeli delmemesine özen gösterilmelidir. (Resim 16)



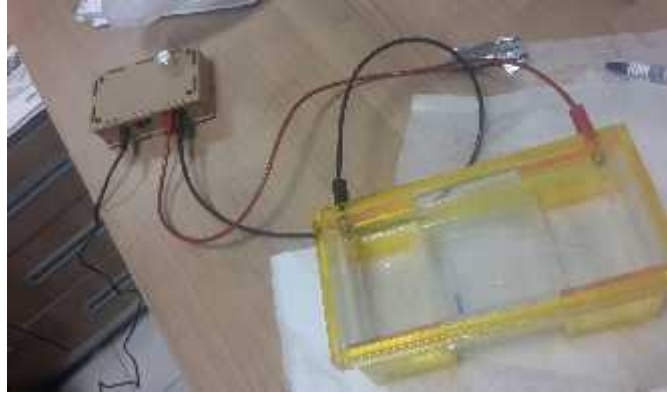
Resim 16: Jel Kuyucuklarına DNA yüklenmesi

- Diğer kuyulara örnekler yükleme boyası ile karı tılarak yüklenir. Örneklerin kuyucuklardan dı arı ta mamasına dikkat edilmelidir. (Resim 17)



Resim 17: Jel Kuyucuklarına DNA yüklenmesi

- Elektrotların uçları doğru şekilde yerleştirilir. (- den + ya doğru) Voltaj 1-5 V/cm olacak şekilde hesaplanır.(Resim 18)



Resim 18: Deney Sonu

- Yükleme boyası jelin 2/3'ükadar yürüdüğünde yürütme durdurulur.
- Jel transiluminatör cihazı açılarak UV ışığında yürütülen DNA gözlemlenir. (Resim 19)



Resim 19: UV'de Yürütülen DNA'nın görüntülenmesi

BÖLÜM 6

SONUÇ

Agaroz jel elektroforezinin nükleik asitleri ayırmakta kullanılan etkili bir yol oldu u kanıtlanmı tır. Agaroz yüksek jel gücünde büyük DNA parçalarının ayrılması için dü ük yüzde jeller kullanılmasını sa lar.molekül eleme jel matris içinde agaroz demetler tarafından üretilen gözeneklerin büyüklü ü ile belirlenir.

Agaroz jel elektroforezi en çok moleküler biyoloji ve genetik dalında kullanılan bir cihazdır. Yapılması gereken pek çok i lemden önce elektroforez i lemi yapılmaktadır.

Jel elektroforezi tasarımında; tank kısmını mika parçalarından olu turduk.10-110 V arası güç kayna ı için gerekli parçaları temin edip güç kayna ımızı olu turduk.

Laboratuvar ortamında zole edilmi DNA kullanarak deneyimizi gerçekte tirdik.

Deney esnasında DNA nın 5 dakika içerisinde yürüdü ünü gözlemledik. Yakla ık 40-45 dakika sonra DNA yürümesi tamamlanmı oldu.

Bu deney sonucunda elde etti imiz verileri laboratuvar ortamında yapılan deneylerle kar ıla tırdık. Hata payının çok az oldu unu gözlemledik.

BÖLÜM 7

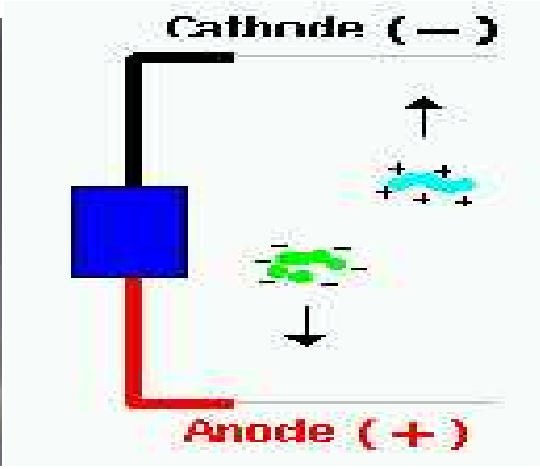
KAYNAKLAR

- Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Elektroforez Uygulamaları ve Klinik Laboratuvar, Fidancı(2010),
http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Sunular/Elektroforez_2010.pdf
- Hacettepe Üniversitesi, Elektroforez, Uzun (2007),
http://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/sunu/s_elektroforez.pdf
- <http://tr.wikipedia.org/wiki/Elektroforez> ,(Vikipedi, özgür ansiklopedi),
- http://tr.wikipedia.org/wiki/Jel_elektroforezi ,(Vikipedi, özgür ansiklopedi),
- Joint Research Centre European Commission, Agaroz Jel Elektroforez, Somma,Querci
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20TR/bolum5.pdf>
- Webgitech, SDS-PAGE Elektroforez,
<http://webgitech.org/uploads/protocol/tr/sds.pdf>
- Balıkesir Üniversitesi, Elektroforez, Demirba (2008),
<http://w3.balikesir.edu.tr/~ozkan/kolloid/kolloid08.pps>
- Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Genom Analiz Laboratuvarı,
<http://merlab.metu.edu.tr/genom-analiz-laboratuvari-gen>
- İstanbul Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (B YOGEM), Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler Kitabı, Temizkan,Arda, Nobel Tıp Kitabevleri, Yayın No:1, (1999)

EK RES MLER



Resim 1: Elektroforez



Resim 2: Çalı ma lkesi

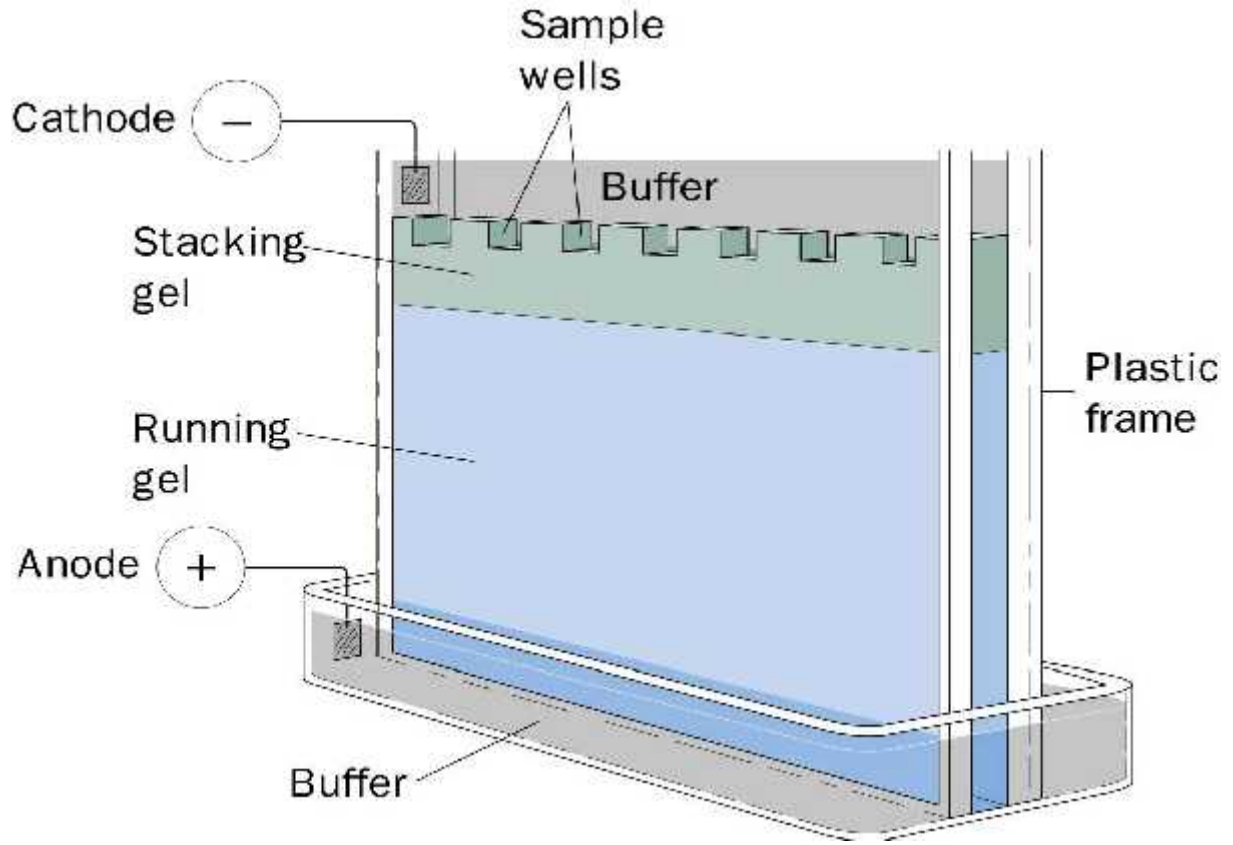


(a) Toz Agaroz



(b) Agaroz Jel Karı ımı

Resim 3: Kimyasal malzemeler



Resim 4:Poliakrilamid Jel Elektroforezi



(a)Mikrodalga Fırın

(b)Tris Borat

Resim 5: Jel Hazırlık A amaları

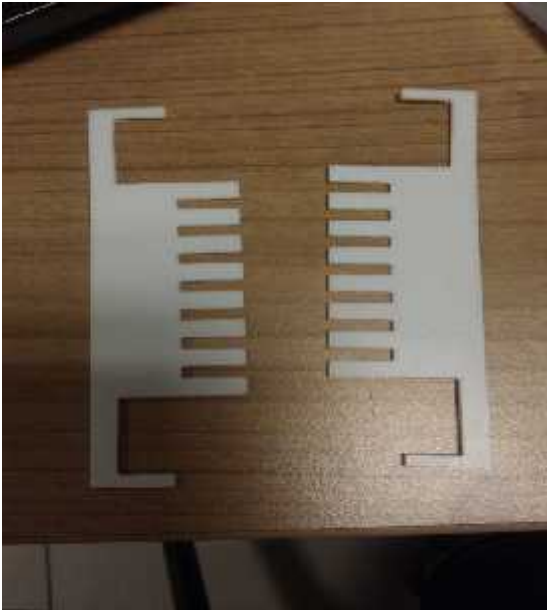


(a) Tasarım Tank

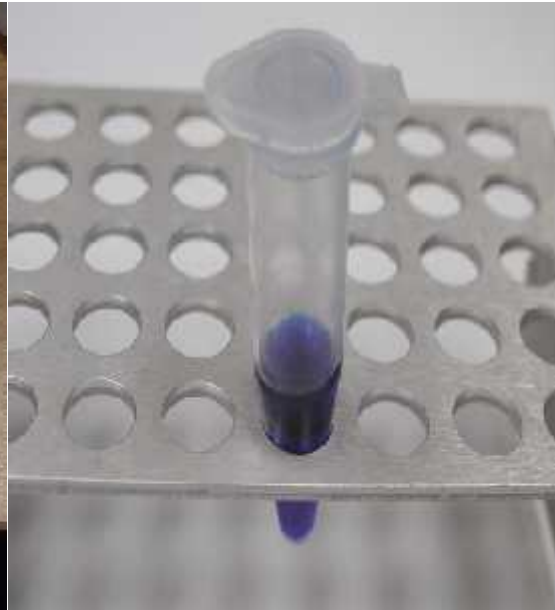


(b)Güç kayna 1

Resim 6:Tasarımlar

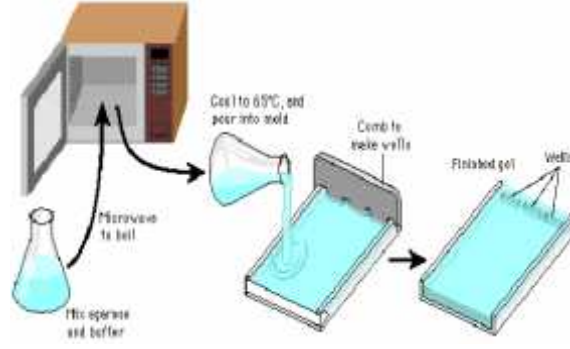


(a)Plastik Taraklar

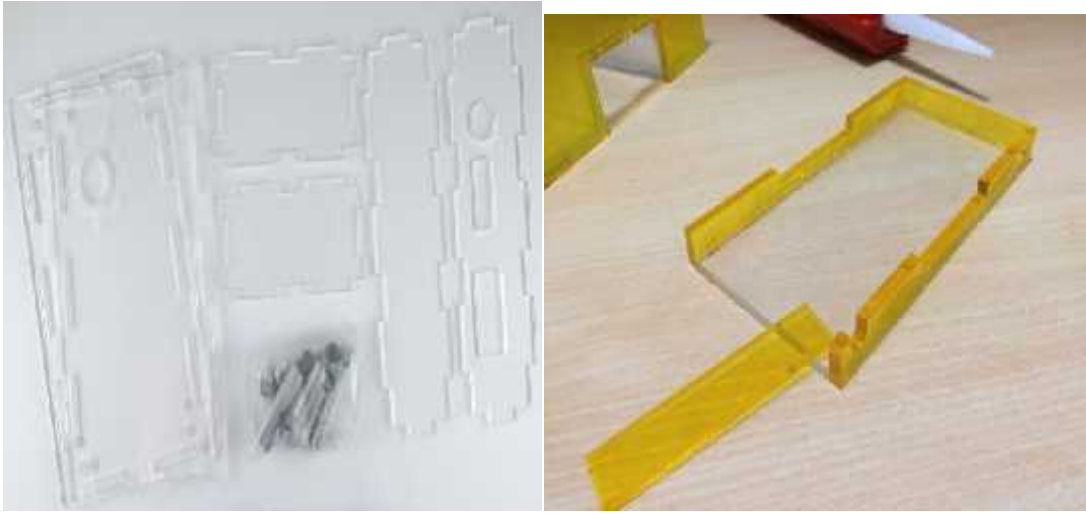


(b)Boyama Jeli

Resim 7:Ekipmanlar



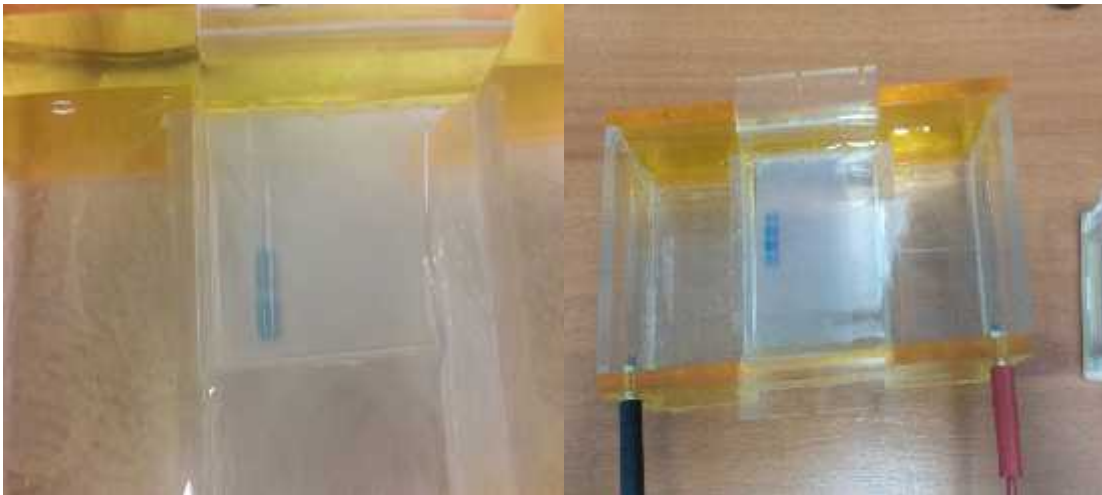
Resim 8:Agaroz Jel Hazırlık A aması Gösterimi



(a)Mika parçaları

(b)Tasarım a aması

Resim 9:Tank Tasarımı



(a)Yapılan 1. Deney

(b) Yapılan 2. Deney

Resim 10:Deneyler



Resim 11:Yapılan 3.deney