

**SODYUM DODESİL SÜLFAT
POLİAKRİLAMİD JEL
ELEKTROFOREZİ TASARIMI**

**YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜNE
SUNULAN
BİTİRME PROJESİ RAPORU**

**BENGİSU ÇOBAN
FAHRİ TEZCAN**

**Biyomedikal Mühendisliği Bölümü
Lisans Programı**

LEFKOŞA, 2018

Bu belge ile, bu belgede ki bütün bilgilerin akademik kurallara, etiğe uygun olduğunu ve uygun sunulduğunu beyan ederiz. Ayrıca bu çalışmada kullanılan özgün olmayan bütün materyal ve bilgilerinin bulunduğu adresleri tam olarak referans verdiğimizizi de beyan ederiz.

İsim, Soyisim: Bengisu Çoban

Fahri Tezcan

İmza :

Tarih :

Ailemize ve saygıdeğer hocalarımıza...

ÖZET

Bu bitirme projesi sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezinin tasarımını içermektedir. Birinci bölümde, bitirme projesinin sorunundan, amacından, öneminden, elektroforezin tarihsel gelişiminden ve çeşitlerinden bahsedilmiştir. İkinci bölümde, elektroforezin genel olarak ne olduğundan bahsedilmiş ve devamında da sodyum dodesil sülfat ve poliakrilamid jelin tam olarak ne olduğu ve ne işe yaradığı açıklanmıştır. Üçüncü bölümde, tasarımda kullanılan materyallardan ve bu materyallerin ne işe yaradığından bahsedilmiştir.

Anahtar kelimeler: Elektroforez; ayrıştırma; örnek analizi; sodyum dodesil sülfat; poliakrilamid jel

İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
İÇİNDEKİLER	iii
BÖLÜM 1: GİRİŞ	1
1.1 Projenin Sorunu	1
1.2 Projenin Amacı.....	1
1.3 Projenin Önemi.....	1
1.4 Elektroforezin Tarihsel Gelişimi	1
1.5 Elektroforez Çeşitleri.....	2
1.6 Elektroforez	3
1.7 Sodyum Dodesil Sülfat.....	3
1.8 Poliakrilamid Jel	4
BÖLÜM 2: MATERYAL ve METOD	5
2.1 Materyal.....	5
2.2 Metod.....	9
BÖLÜM 3: SONUÇ	10
KAYNAKÇA	11

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Cam aparatlar, çentikli cam aparatlar, su sızdırmaz conta, tarak, klipsler.....	5
Şekil 2.2: Su sızdırmaz conta ile camın ve çentikli camın ayrılması	6
Şekil 2.3: Camların klips ile sıkıştırılması	6
Şekil 2.4: Camların jeli muhafaza etmesi	7
Şekil 2.5: Klipslerle tutturulan camlara tarağın yerleştirilmesi	7
Şekil 2.6: Tank.....	8
Şekil 2.7: Güç kaynağı	8

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Projenin Sorunu

Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel yöntemi ile gerçekleştirilen protein ayrıştırmalarının diğer yöntemlerden daha pratik ve hızlı olduğu görülmüştür. Bizim bitirme projemizde de diğer yöntemler yerine SDS PAGE yöntemi kullanılmıştır. SDS PAGE yöntemi kullanılarak yapılan deneylerin diğer deneylerden başka bir farkı boyama işlemi adı verilen işlemden sonra elde edilcek verilere yani ayrıştırma verilerine daha kolay ulaşılmasıdır (Giryan, 2016).

1.2 Projenin Amacı

Bu proje ile proteinlerin ve enzimlerin ayrıştırılmasında kullanılan elektroforez tekniğinin tasarımı, elektroforez cihazının nasıl çalıştığı, çalışma koşulları ve elektroforezin tarihsel gelişimini içermektedir.

1.3 Projenin Önemi

Elektroforez; moleküllerin ve makromoleküllerin elektrik yüklerine göre molekül ağırlıklarına ayrılması tekniğine verilen isimdir. Bu projenin yöntemi, öncelikle cihazın tasarımının yapılmasıdır. Tasarımı yapılan cihazda ise proteinlerin veya polipeptitlerin molekül ağırlıklarına göre akrilamid jelde elektrik akımı etkisiyle hareket ettirilmesi ve sonunda jelde bunların tespit edilmesini kapsar (Giryan, 2016).

1.4 Elektroforezin Tarihsel Gelişimi

1907 yılında Field ve Teague tarafından çeşitli madde karışımlarının elektriksel bir alanda farklı sürütlere sahip oluşları kullanılarak birbirinden ayrılabilceği bulundu. Tselius 1930

yılında serum proteinleri üzerinde çalışırken, Longsworth 1945 yılında, Alberty 1953 yılında çizgi taşınması üzerinde araştırmalar yapmış ve 1980'lerin başında modern elektroforez Jorgenson ve Lukas'ın çalışmaları ile başlamıştır (Özan, 2016).

1.5 Elektroforez Çeşitleri

Elektroforezin SDS PAGE dışında başka çeşitleri de vardır; serbest ve hareketli cephe elektroforezi, kağıt elektroforezi, selüloz asetat elektroforezi agaroz jel elektroforezi, nişasta jel elektroforezi, poliakrilamid jel elektroforezi, kapillar elektroforez, immunoelektroforez bu çeşitlerdir. Kağıt elektroforez pahalıdır, işlem uzun sürer. Kendi içerisinde iki çeşidi vardır. Bu çeşitlerden ilki güç kaynağından düşük voltaj alır. Diğerinde ise yüksek voltaj alımı vardır. Bu elektroforez çeşidinde örneklerin yüklendiği destek matriksi adından da anlaşılabilir gibi filtre kağıdıdır. Bu yöntem kullanılarak protein, enzim ve aminoasitler ayrıştırılabilir. Selüloz asetat elektroforezi, kağıt elektroforezinden farklı olarak, pahalı değildir, ayrımı iyi yapar. Destek ortamının opak olmasına karşın az miktarda serum örneği yeterlidir. Dansitometrede okutma işlemine girmeden önce kimyasal işlemlere ihtiyaç olduğundan pratik değildir. Büyük moleküllü proteinlerde kullanımı tercih edilmez, porları çok ufaktır. Hareketli cephe elektroforezi 'u' şeklinde bir borudur. Bu 'u' şeklindeki borunun alt kısmına içerisinde protein karışımı olan tampon çözelti üstüne de saf tampon konularak doldurulmaktadır. Bu borunun çözeltilerin konulduğu bir ağız kısmı vardır. Bu kısımdan güç kaynağı bağlantısı yapılmaktadır. Pozitif ve negatif kutuplara bağlanmış güç kaynağı ile verilen akım ile ayırım gerçekleştirilmektedir. Akım ile negatif yüklü proteinler anoda doğru; pozitif yüklü proteinler de katoda doğru hareket etmeye başlamaktadır. Boru boyunca yapılan optik ölçümler ile belli başlı proteinlerin birbirlerine göre hızları ve yönleri saptanarak ayırıştırma yapılmaktadır. Agaroz jel elektroforezinde, destek matriksi olarak kullanılan agaroz; proteinlerin absorbesine ve elektroendozmisine neden olmaktadır, yumuşaktır ve çabuk dağılır. Buna rağmen moleküler biyoloji alanında kullanımı, numune ekstraksiyonu kolay olduğundan yaygındır. Serum proteinlerinde, hemoglobin varyantlarında, laktat,

dehidrogenaz izoenzimlerinde, lipoprotein fraksiyonlarda, DNA ve RNA analizlerinde kullanılır. Nişasta jel elektroforezinde ise destek matrisi olarak hidrolize edilmiş nişasta kullanılır. Smithes tarafından kullanılmıştır. Smithes aynı zamanda elektriksel alandaki göçün, elektriksel yüke bağlı olduğu kadar molekül ağırlığına da bağlı olduğunu söyleyen kişidir. Kapiller elektroforez küçük çaplıdır; 100 cm uzunluğunda kapiller boru ile gerçekleştirilen bir elektroforez yöntemidir. Bu yöntemde diğer yöntemlerden farklı olarak seperasyon artı kutuptan eksi kutba doğru olmaktadır. Kullanışlıdır, az miktarda numune ve reaktif vardır. Kapiller boru uzun ömürlü ve ucuzdur, hızlı ayırım yapabilmektedir. Yüksek seçilim özelliği ile dikkat çeker. İmmunoelektroforez yöntemi ile 1953 yılında Grabar ve Williams sayesinde tanışılmıştır. Bu yöntemde de daha önce bahsedilen agaroz kullanılmaktadır. Scheidegger bu yöntemi bugün kullanılan haline getiren kişidir. Çalışma prensibi, serum proteinlerinin elektroforetik ayırımından sonra hangi protein için çalışma yapılıyorsa o proteine karşı antiserum eklenerek antijen-antikor çökeltisinin gösterilmesidir. Virüs teşhisi, protein konsantrasyon değişikliklerinin gösterilmesinde, klinik laboratuvarlarında, bir çok spesifik protein gösterilmesinde kullanılmaktadır (Özan, 2016).

1.6 Elektroforez

Elektroforez; bir çözeltideki asılı taneciklerin, elektrik alanı etkisiyle ayrılmasıdır. Bir çözeltideki asılı tanecikler yani çözünmüş moleküller elektriksel alan içerisinde, üstlerindeki elektrik yükünün kütlelerine oranınca ayrışmaktadırlar. Akım uygulanan moleküllerin, molekül ağırlıklarına göre ve poliakrilamid jel içerisindeki hareketlerine göre ayrılmasına dayanır (SDS-PAGE jel elektroforezi, 2017).

1.7 Sodyum Dodesil Sülfat

Oligomerik proteinleri altbirimlerine ayıran biyolojik deterjandır. Bu deterjan, polipeptitlere bağlanarak bir kompleks oluşturmaktadır. Bu oluşturduğu kompleks polipeptitlerin negatif yüklü kalmasını sağlar.

Bu biyolojik deterjan, zar proteini gibi proteinleri çözebilmektedir. Protein saflaştırmada iki

yöntem vardır; preparatif saflaştırmada hedef daha çok büyük miktarda saf protein eldesi etmek iken analitik saflaştırmada araştırma ve ya analizlerde kullanmaya yetecek kadar yani daha az protein üretimi yapılmaktadır (SDS-PAGE jel elektroforezi, 2017).

1.8 Poliakrilamid Jel

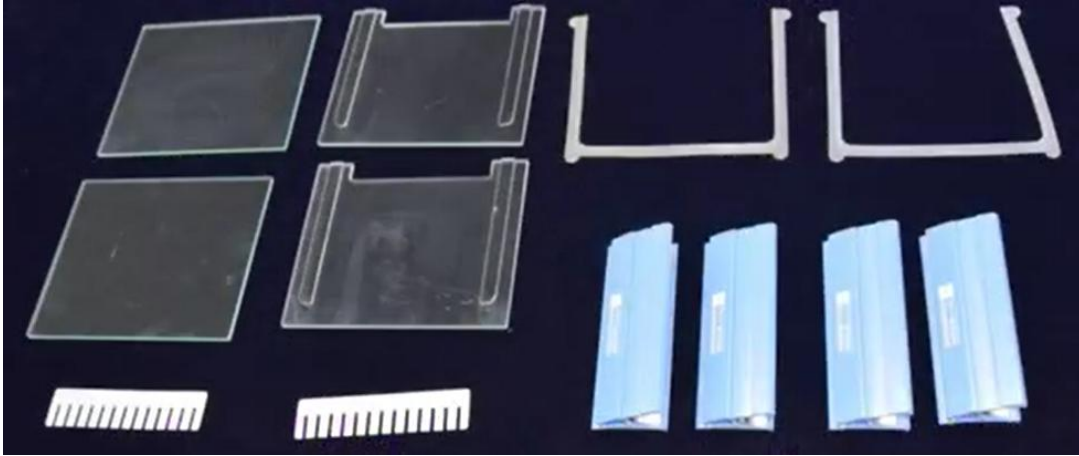
Poliakrilamid jel, destek matriksi olarak kullanılmaktadır. Protein ayırımında sıkça karşılmaktadır; porlu bir jel ortaya koymaktadır. Bu porlu jelin filtre gibi işlevi vardır. İçerisindeki büyük moleküllerin hareketini yavaşlatma ve bununla beraber küçük moleküllerin de hızını artırdığından belli bir por büyüklüğünde jel kullanırsak bu büyüklükte ayırım yapmak mümkündür (SDS-PAGE jel elektroforezi, 2017).

BÖLÜM 2

MATERYAL ve METOD

2.1 Materyal

Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi tasarımı için; cam aparatlara, çentikli cam aparatlara, su sızdırmaz contaya, tarağa, klipslere, tanka, elektrotlara ihtiyaç vardır (Şekil 2.1).



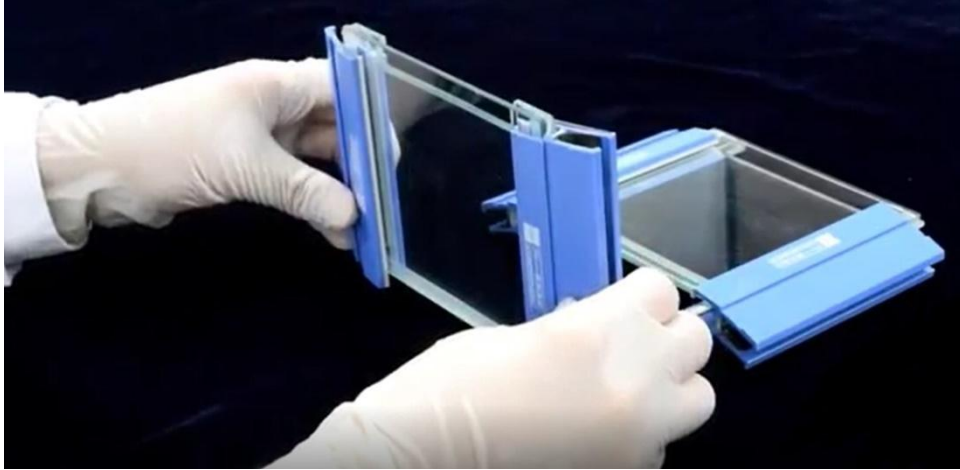
Şekil 2.1: Cam aparatlar, çentikli cam aparatlar, su sızdırmaz conta, tarak, klipsler (SDS-PAGE gel casting, 2016)

Dikey tip sodyum elektroforezimizin tasarımında kullanılacak camlar bu işleme uygun olması için tabakalar şeklinde 10x10 santimetre kesilir. İki cam tabaka arasında 0.5-2.0 mm aralık olmalıdır. Bu araya su sızdırmaz contalar girecektir(Şekil 2.



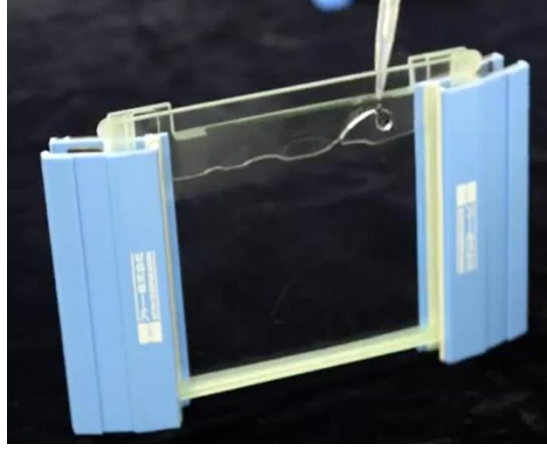
Şekil 2.2: Su sızdırmaz conta ile camın ve çentikli camın ayrılması (SDS-PAGE gel casting, 2016)

Bu camların arasına daha sonra poliakrilamid jel yerleştirilecektir. Bu jelin dışarı çıkmasını engellemek için camlar dışarıya sıvı çıkışı olmayacak şekilde klips ile tutturulmalıdır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Camların klips ile sıkıştırılması (SDS-PAGE gel casting, 2016)

Tutturulan camların arasına ayırma ve yürütme jeli konulacaktır. Sıvı çıkışı olmayacaktır. Projede en önemli noktalardan biri budur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Camların jeli muhafaza etmesi (SDS-PAGE gel casting, 2016)

Dışarıya sıvı çıkışı olmayacak şekilde tutturulan camların üst kısmına yerleştirilen plastik tarak, jelde küçük kuyucukların oluşmasını sağlar (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Klipslerle tutturulan camlara tarağın yerleştirilmesi (SDS-PAGE gel casting, 2016)

Tank, dibindeki yürütme tamponu ile cam tabakaları içinde bulunduran kısımdır(Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Tank (Özan, 2016)

Güç kaynağı ile yürütme işlemini sağlamak üzere 150-180 V arası değer seçilir, bu değer elektrotlardan uygulanacaktır(Şekil 2.7) (SDS-PAGE gel casting, 2016).



Şekil 2.7: Güç kaynağı (Özan, 2016)

2.2 Metod

Elektroforezin gerçekleşmesi için öncelikle ayırma ve yürütme jellerinin hazırlanması gerekmektedir. Bu jeller hazırlandıktan sonra klipslerle tutturulan camlar, sıvı çıkışının olup olmadığını kontrol etmek amacıyla saf su ile doldurulur. Sıvı çıkışı yoksa öncelikle daha önceden hazırlanan ayırma jeli ve üstüne saf su konur. Daha sonra saf su geri dökülür ve yürütme jeli ayırma jelinin üstüne konur. Ayırma jelinin bulunduğu seviyeye gelecek şekilde ayarlanmış tarak da üstten belli seviyeye gelecek şekilde yerleştirilir. Yaklaşık 20 dk.'da hazır olan jelden tarak çıkarılır. Protein örnekleri tarağa yerleştirilir. Elektrotların olduğu tanka yerleştirilen camların içerisindeki jelle yüklenen örnekler elektrotlardan gelen akım sayesinde ayrıştırılmaktadır (Sümengen, 2011).

BÖLÜM 3

SONUÇ

Bu proje sayesinde; poliakrilamid jel varlığında yürütülen taneciklerin bulundukları elektrik enerjisinin jel içinde bir yükten diğerine giderken kat ettikleri mesafe farkını kullanarak,ayrıştırma yapılabileceğini, elektroforez sisteminin çeşitlerini, bu çeşitlerin SDS PAGE elektroforez sisteminden farkını, SDS PAGE elektroforezi tasarımının nasıl yapılacağı anlatılmıştır.

KAYNAKÇA

Giryan. (2016, Kasım 25). SDS-PAGE (Poliakrilamid Jel Elektroforezi) Nedir? Nasıl Yapılır . SDS Poliakrilamid jel elektroforezi Nedir? Nasıl Yapılır?: <http://www.tech-worm.com/sds-page-sds-poliakrilamid-jel-elektroforezi-nedir-nasil-yapilir/> adresinden alınmıştır

Özan, E. (2016). Elektroforesis.

SDS-PAGE gel casting. (2016). <https://www.youtube.com/watch?v=hY3PnKrRh5k&t=1s> adresinden alınmıştır.

SDS-PAGE jel elektroforezi. (2017). SDS-PAGE jel elektroforezi: <http://www.kompy.info/download/sds-page-jel-elektroforezi-icerik.doc> adresinden alınmıştır.

Sümengen, M. (2011). Laktik asit bakterilerinden fitaz üretimi ve endüstriyel kullanım olanakları. Adana.