|  |  |
| --- | --- |
| simge, sembol, logo, daire, ticari marka içeren bir resim  Yapay zeka tarafından oluşturulmuş içerik yanlış olabilir. | **TRABZON ÜNİVERSİTESİ TONYA MESLEK YÜKSEKOKULU TIBBİ HİZMETLER VE TEKNİKLERİ BÖLÜMÜ TIBBİ LABORATUVAR TEKNİKLERİ PROGRAMI****PCR REAKSİYON KARIŞIMININ HAZIRLANMASI BECERİ KONTROL FORMU** |
| 1. **Yetersiz**: Basamağın hiç uygulanmaması ya da sırasında, doğru uygulanmaması.
2. **Geliştirilmesi Gerekir:** Basamağın doğru ve sırasında uygulanması, fakat eksikliklerin olması, eğiticinin hatırlatmasına gerek duyulması.
3. **Yeterli**: Basamağın duraklamadan ve yardıma gerek kalmadan doğru olarak ve sırasında uygulanması.
 |
| **Öğrenci Adı-Soyadı: Öğrenci No:****Uygulama Tarihleri:** |
| **İşlem Sırası** | ***İşlem basamakları*** | ***Öneri*** | **Uygulama Düzeyi** |
| **1** | **2** | **3** |
| **1** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |

Kişisel koruyucu ekipmanlar (önlük, eldiven, maske, gözlük) eksiksiz olarak giyilir. | DNA amplifikasyonu sırasında kontaminasyonu önlemek için koruyucu ekipmanların kullanımı zorunludur. |  |  |  |
| **2** | Çalışma alanı, özellikle PCR karışımı hazırlığı için ayrılmış temiz bir alanda hazırlanır ve dezenfekte edilir. | Aerosoller ve DNA kalıntıları kontaminasyon riskini artırır. UV ışığı, %70 etanol ve DNA'sız pipet uçları ile çalışma alanı sterilize edilmelidir. |  |  |  |
| **3** | PCR tüpleri, buz üzerinde veya soğuk blokta saklanarak karışım hazırlığına başlanır. | Enzimlerin (örneğin Taq polimeraz) aktivitesinin erkenden başlamasını önlemek için tüm bileşenler soğuk zincirde tutulmalıdır. Taq polimeraz enzim aktivasyonu bozulmaması için oda sıcaklığında uzun süre kalmamalıdır. |  |  |  |
| **4** | Tüp dizilimi planlanır ve PCR standına yerleştirilir:| T1 | T2 | T3 | NC | PC |T1–T3: Örnekler | NC: Negatif kontrol | PC: Pozitif kontrol | Tüp dizilimi örnek ve kontrollerin karışmasını önler. NC (negatif kontrol) ve PC (pozitif kontrol) mutlaka yer almalı; pipetleme sırasında sıralama korunmalıdır. DNA olmayan bir tüpe DNA teması olmamalıdır (negatif kontrol bozulur). Daha önceden çalıştığı bilinen bir DNA ile yeni hazırlanan reaksiyon kontrol edilir (pozitif kontrol ile yapılır). |  |  |  |
| **5** | Master mix içeriği belirlenir. | Ortak bileşenler (Buffer, dNTP, primerler, MgCl2, Taq polimeraz, steril su) bir tüpte toplanarak pipetleme hatalarını azaltan master mix hazırlanabilir. |  |  |  |
| **6** | Pipetleme sırasına uygun şekilde master mix tüm tüplere dağıtılır. | Sıra: 10X Buffer → MgCl2 → dNTP → Primer-F/R → H2O → Taq. Şablon DNA her tüp için bireysel eklenir. |  |  |  |
| **7** | Bireysel reaksiyonlarda tüm bileşenler her tüpe ayrı ayrı eklenir. | Master mix yoksa, her tüpe doğru hacimlerde tek tek pipetlenmelidir. |  |  |  |
| **8** | Pipetleme hacimleri dikkatle kontrol edilir. PCR Pipetleme Sırası:1. Buffer (2.5 µL)2. MgCl2 (1.5 µL)3. dNTP (0.5 µL)4. Primer-F (0.5 µL) + Primer-R (0.5 µL)5. Taq (0.25 µL)6. H2O (18.25 µL)7. DNA Şablon (1.0 µL) | Örn: 25 µL'lik toplam hacim için her bileşen önceden hesaplanmalıdır.Dilara Sarı | İsmini çok duyduğunuz PCR(Polymerase Chain Reaction) methodu  aslında biyoteknolojinin temel taşlarından biri. Ana prensip şu şekilde az  bir... | Instagram |  |  |  |
| **9** | Her bir bileşen doğru hacimde ve kontaminasyonsuz bir şekilde eklenir. | Mikropipetlerin kalibrasyonu düzenli olarak yapılmalıdır. Pipet uçları her transferde değiştirilmelidir. |  |  |  |
| **10** | Karışım homojen olacak şekilde hafifçe tüp çalkalanır veya parmakla pipet ucuna vurularak karıştırılır. | Vortexleme bazı enzimlerin aktivitesini bozabilir. Özellikle enzimin zarar görmemesi için nazik karıştırma tercih edilmelidir. |  |  |  |
| **11** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| Tüpler kısa süreli santrifüj edilerek içerik tabanaeklenir. |

 | Hava kabarcıklarının giderilmesi ve hacim eşitliğinin sağlanması için santrifüj önerilir (yaklaşık 3–5 saniye). |  |  |  |
| **12** | PCR tüpleri buz üzerinde PCR cihazına (termal siklusa) yerleştirilinceye kadar bekletilir. | Enzimatik reaksiyonun erken başlamaması için PCR tüpleri çalışmanın sonuna kadar soğukta tutulmalıdır. |  |  |  |
| **13** | PCR programı (siklusu) cihaza tanımlanır ve başlatılır. | Denatürasyon, annealing ve uzama sıcaklıkları ile süreleri protokole uygun olmalıdır (örneğin: 94°C – 30 sn, 55°C – 30 sn, 72°C – 1 dk). |  |  |  |
| **14** | Cihaz çalışmaya başladıktan sonra PCR tüpleri cihazın bloğuna dikkatlice yerleştirilir ve kapak kapatılır. | Tüplerin dengeli yerleştirilmesi, ısı dağılımı açısından önemlidir. Kapak düzgün kapatılmazsa buharlaşma olur. |  |  |  |
| **15** | PCR tamamlandıktan sonra ürünler soğukta saklanmak üzere -20°C’ye alınır veya elektroforez için hazırlanır. | Amplifiye edilen DNA, ürün kontrolü için agaroz jel elektroforezi ile doğrulanmalıdır. Saklama süresi boyunca bozulmayı önlemek için -20°C idealdir. |  |  |  |
| **Toplam Puan** |  |
| **Uygulamayı Yapan Öğretim Elemanı Adı-Soyadı:** **Uygulamayı Yapan Öğretim Elemanı İmza :** |

**Öğrenci Öz Değerlendirme ve Geri Bildirim Formu**

Bu form, beceri uygulaması sonrasında öğrencinin kendi uygulamasını değerlendirmesi ve eğitmen tarafından yapılan gözlemler doğrultusunda bireysel gelişim sürecine katkı sağlaması amacıyla hazırlanmıştır.

# **1. Öğrenci Öz Değerlendirme:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Değerlendirme Kriteri** | **Evet / Hayır** | **Açıklama (Varsa)** |
| Gerekli malzemeleri eksiksiz ve steril şekilde hazırladım. |  |  |
| Pipetleme işlemlerini doğru hacimlerle gerçekleştirdim. |  |  |
| Enzimleri ve diğer bileşenleri uygun sırayla ekledim. |  |  |
| PCR tüplerini soğuk zincirde korudum. |  |  |
| Termal siklusu doğru şekilde ayarlayıp başlattım. |  |  |

# **2. Eğitmen Geri Bildirimi:**

Eğitmen, öğrencinin uygulama sırasında gözlenen güçlü yönleri ve geliştirilmesi gereken alanları buraya yazmalıdır: