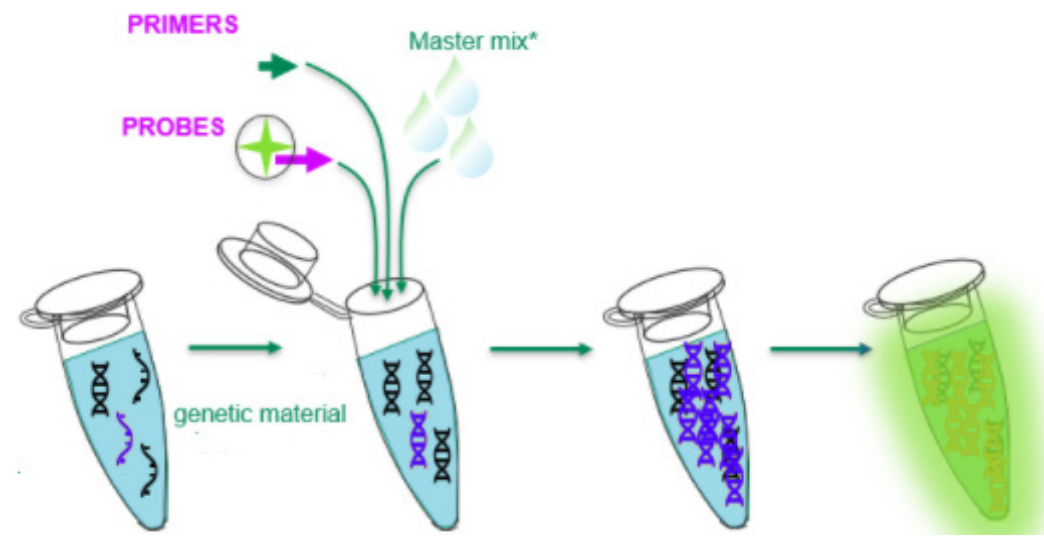
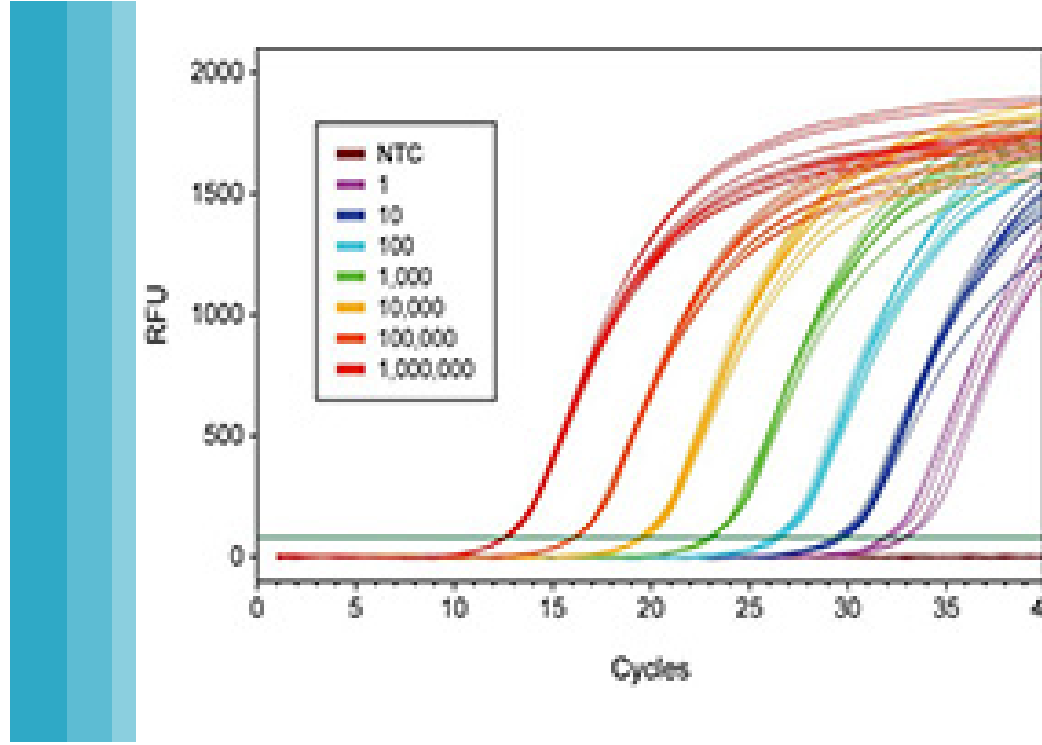


Primer ve Probe'ları Kullanıma Hazır Hale Getirme

Primer/Probe Nedir?



Primerler (Oligonükleotid), kısa nükleotid dizileridir. Birçok moleküler ve genetik işlemlerde kullanılmaktadırlar. Nükleik asit probeları, hibridizasyon yoluyla spesifik nükleik asit sekanslarını tespit etmek için çok önemli reaktiflerdir. Çözelti halinde veya katı faza eklenmiş spesifik bir hibridize probeun görselleştirilmesi, hibridizasyon testinin temel prensibidir.



Primer/Probe Sulandırma İşlemi Nasıl Yapılır?

Oligonükleotidleri çözme işlemi için TE (Tris-EDTA tampon çözeltisi) veya DNaz/RNaz içermeyen su (DNase/RNase free water/DEPC water) kullanılır.

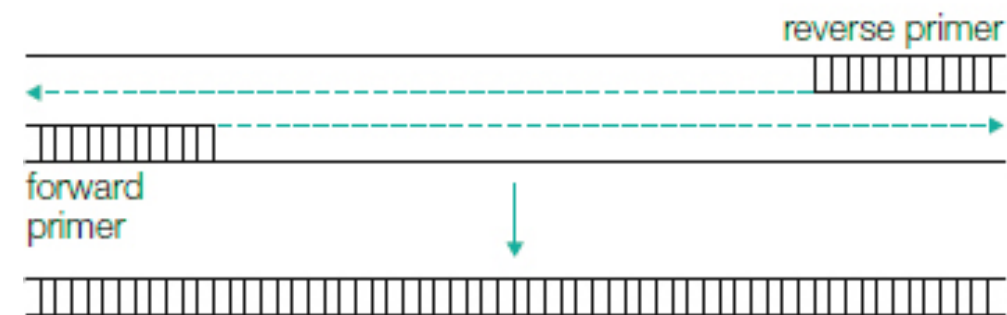
- 100 μM = 100 $\mu\text{Moles/L}$ = 0.1 nMoles/ μL
- Ana stok = 100 μM

Amount of Oligo

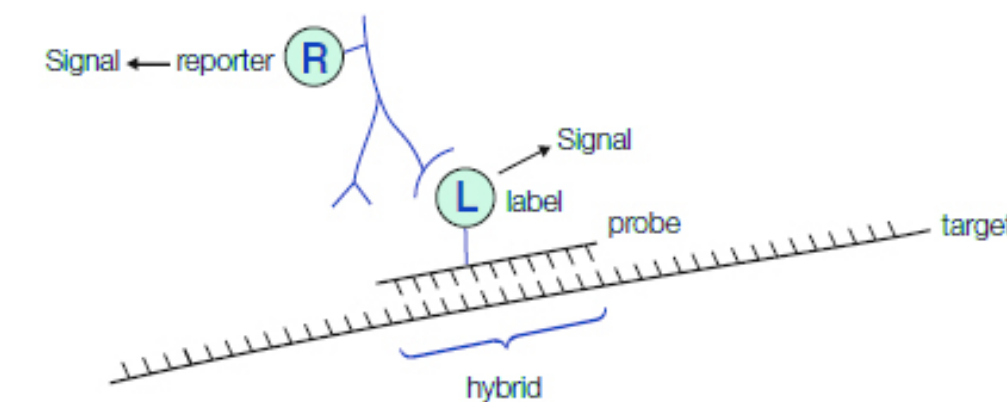
34.0 =	155.5 =	0.96
OD 260	nMoles	mg

Tablo: Primer için bildirilen miktar

- 100 μM = X nmol liyofilize primer + (X $\times$ 10 μL H₂O)
- Örneğin; 155.5 nmol primer varsa 1555 μL H₂O eklenerek 100 μM primer ana stok oluşturulur.
- Çalışma stoğu = 10 μM olacak ise
- Primer ana stoğunu, H₂O ile 1:10 steril mikrosantrifüj tüpünde seyreltilir.



Şema 1: DNA'ya etiketlenmiş primerler



Şema 2: Hibridize probelaraın tespiti için yapılmış isimlendirme

Üretilen primer ve probelaraın oligonükleotid dizisine spesifik olup olmadığı kalite kontrol testleri ile kontrol edilmelidir. Primerleri saflaştırma işlemleri olarak, standart **desalted (DSLIT)** saflaştırma ve **HPCL** saflaştırma seçenekleri sunulabilir. Hangi saflaştırma yöntemi tercih edilirse edilsin PCR işleminde kullanılan son konsantrasyona göre sarfiyat değişkenlik gösterecektir. Bundan dolayı da hazırlanan sentez skalasına göre verilen tahmini PCR reaksiyon sayısı oldukça değişkenlik göstermektedir.

Liyofilize olarak gelen primer/probelar sıcaklık değişimlerinden etkilenmediği için oda sıcaklığında saklanabilir. Sulandırılma işlemi yapıldıktan sonra -20 $^{\circ}\text{C}$ ' de saklanmalıdır. Uzun süreli kullanımlar için don-çöz yapılmamalı ve aliquotlanarak kullanımı gerçekleştirilmelidir.

