

**KROMOZOMAL DNA AYRIMINDA KULLANILAN DÜŞÜK MALİYETLİ ATIMLI
ALAN ELEKTROFOREZ CİHAZININ TASARIMI VE OPTİMİZASYONU****DESIGN AND OPTIMIZATION OF LOW COST PULSE FIELD
ELECTROPHORESIS DEVICE USED IN CHROMOSOMAL DNA SEPARATION****Halil ATMACA**

Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji ve İleri Malzemeler Bölümü,
Mezitli, Mersin

ORCID ID: 0000-0002-9444-4598

Burak KOZAN

Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, Mezitli, Mersin
ORCID ID: 0000-0003-0452-2810

Bariş POLAT

Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Nanoteknoloji ve İleri Malzemeler Bölümü, Mezitli, Mersin.

ORCID ID: 0000-0003-3314-2091

Dr. Öğr. Üyesi İbrahim KÜÇÜKKARA

Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji ve İleri Malzemeler Bölümü,
Mezitli, Mersin.

ORCID ID: 0000-0001-5932-8412

ÖZET

Agaroz jel esaslı DNA elektroforezi, moleküler biyolojide en sık kullanılan tekniklerden birisidir. Pratik çözüm aralığı (yaklaşık 50 kb'a kadar) PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), moleküler klonlama ve plazmid manipülasyonu dahil olmak üzere diğer birçok yaygın tekniklerle örtüşür. Ancak, yukarıda bahsedilen boyut sınırlaması göz önüne alındığında, geleneksel jel elektroforez teknikleri kullanılarak sağlam kromozomal DNA moleküllerinin, çok büyük DNA parçalarının veya doğrudan genomik analizlerinin yapılması mümkün değildir. Konvansiyonel DNA elektroforezi oldukça kolaydır: sabit bir elektrik alanı agaroz jele uygulanır ve küçük DNA molekülleri boyuta bağlı bir şekilde elenir. Fakat çok büyük DNA moleküllerinin ayrıştırılması gerektiği zaman bu eleme etkisi başarısız olabilir. Bunun nedeni büyük DNA moleküllerinin çözelti içerisinde yumuşak, top gibi halkasal halde bulunmasıdır. Bu moleküller ancak sıkı jel matrisinden geçişine izin verecek kadar ciddi bir çözünmeden sonra küçük porlarından geçebilir. Bu etki bir eleme jel matrisi vasıtasıyla büyük ve küçük moleküllerin geçişini sağlarken, aynı zamanda, ne yazık ki, boyuta bağlı elektroforetik hareketliliğin ayırım için etkisini ortadan kaldırmaktadır. Bu istenmeyen durumun varlığı, son derece düşük jel konsantrasyonları veya düşük elektrik alan kuvveti kullanılarak zayıflatılır, ancak DNA boyutları yaklaşık 200 kb'yi aştığında bu çözümler de yeterli olmayacaktır. Ayrıca standart jel elektroforezinde kullanılan pipetleme yöntemi büyük boyuttaki DNA parçaları için sorun teşkil etmektedir. Çünkü büyük boyuttaki DNA parçaları oldukça kırılabilir yapıdadır. Bunların pipetlenmesi büyük sorundur ve kırılmalarına neden

olacaktır. 1983' de Schwartz ve Cantor, bu sınırlamaları atlatmak için milyonlarca baz çifti boyutuna kadar olan çok büyük DNA moleküllerinin ayırımına izin veren bir yöntem olarak Atımlı Alan Elektrofrezini geliştirdi. Bu teknik 5 Mb'yi aşan DNA moleküllerini çözebilmektedir. Üst sınır hala bilinmiyor. Bu cihaz elektrik alanının yönünü düzenli olarak değiştirerek ilk elektrik alanının ortadan kalkmasından dolayı jel içindeki DNA moleküllerinin gevşemesine son olarak da yeni alanda DNA moleküllerinin uzayarak hizaya girmesini sağlamaktadır. Bizler de bu cihazı 4 yollu 5 voltluk arduino uno kartı ile günümüz teknolojisine uyarlayarak daha düşük maliyette tasarladık. Cihazı dijital kontrollü hale getirdik. Milisaniye cinsinden kontrolünü de sağladık.

Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Bölümü'ne, "2017-2-TP2-2547" kodlu projemize verdikleri destek için teşekkür ederiz.

Anahtar Kelimeler: Elektrofrez, Atımlı alan, Agaroz, Arduino, Elektriksel Alan.

ABSTRACT

Agarose-based DNA electrophoresis is one of the most commonly used techniques in molecular biology. The range of practical solutions (up to about 50 kb) coincide with many other standart techniques, including PCR, molecular cloning and plasmid manipulation. However, given the size above limitation, it is not possible to perform robust chromosomal DNA molecules, very huge DNA fragments or direct genomic analyzes using conventional gel electrophoresis techniques. Conventional DNA electrophoresis is quite easy: a constant electric field is applied to the agarose gel and small DNA molecules are sieved in a size-dependent manner. However, this screening effect may fail when very large DNA molecules need to be separated. This is because large DNA molecules are present in solution in a soft, ball-like ring. These molecules can only pass through small pores after severe dissolution to allow passage through the tight gel matrix. This effect allows the passage of large and small molecules through a sieving gel matrix, while at the same time eliminating the effect of size-dependent electrophoretic mobility for separation. The presence of this undesirable condition is attenuated using deficient gel concentrations or low electric field strength, but these solutions will not be sufficient when the DNA size exceeds about 200 kb. In addition, the pipetting method used in standard gel electrophoresis is problematic for large DNA fragments. Because large DNA fragments are very fragile, pipetting them is a big problem and will cause breaks. In 1983, Schwartz and Cantor developed Pulse Field Electrophoresis, a method that allowed the separation of very large DNA molecules up to millions of base pairs to circumvent these limitations. This technique can dissolve DNA molecules exceeding 5 Mb. The upper limit is still unknown. This device changes the direction of the electric field regularly, resulting in the relaxation of the DNA molecules in the gel due to the disappearance of the first electric field, and finally the extension of the DNA molecules in the new field. We designed this device with the 4- way 5-volt Arduino Uno card to today's technology at a lower cost. Moreover we made the device digitally controlled. We now have control in milliseconds.

We are grateful to Mersin University Department of Scientific Research Projects for their supports to our project namely “2017-2-TP2-2547”.

Keywords: Pulsed Field, Electrophoresis, Agarose, Arduino, Electrical Field.