

İSTİNYE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DÖNEM I
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Uygulama Kitapçığı
2024 – 2025

“Biyolojide Hiçbir Şey Evrim Işığı Dışında Anlamlı Değildir”

Theodosius Dobzhansky

(1900 - 1975)

Hazırlayan:

İSÜTF-MÖTEP

Laboratuvar Kurulu

İSÜ | İSTİNYE
ÜNİVERSİTESİ
İ S T A N B U L

Revizyon No: 2024-v0.

ÖNSÖZ

Tıbbi Biyoloji, biyolojik süreçlerin ve yapılarının anlaşılmasında temel bir disiplin olup, tıp alanında önemli bir rol oynamaktadır. Tıp fakültesi öğrencileri için hazırlanan bu laboratuvar föyü, temel biyolojik kavramları deneysel bir ortamda keşfetmeyi ve öğrenmeyi amaçlamaktadır.

Laboratuvar deneyleri, teorik bilgilerin pratiğe dökülmesi ve bilimsel yöntemlerin uygulanması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, prokaryot ve ökaryot hücrelerin incelenmesi, insan kromozomlarının analizi, hücre bölünmesi süreçlerinin gözlemlenmesi ve DNA izolasyonu gibi temel konular, öğrencilerin moleküler biyoloji ve genetik alanındaki bilgi ve becerilerini geliştirmelerine yardımcı olacaktır.

Her bir deney, belirli öğrenim hedefleri doğrultusunda tasarlanmış olup, öğrencilerin laboratuvar güvenliği, ekipman kullanımı ve bilimsel gözlem yeteneklerini pekiştirmeyi hedeflemektedir. Deneylerin her biri, teorik bilgilerin pratiğe dönüşmesini sağlarken, öğrencilerin eleştirel düşünme ve problem çözme yeteneklerini de geliştirecektir.

Bu laboratuvar çalışmaları sırasında elde edilen deneyimlerin, öğrencilerin tıp alanındaki kariyerlerinde sağlam bir temel oluşturacağına inanıyoruz. Tüm öğrencilere başarılı ve verimli bir laboratuvar deneyimi diliyoruz.

İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	2
ÖĞRENİM ÇIKTILARI ve DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ	4
LABORATUVARDA UYULMASI GEREKEN KURALLAR	5
TIBBİ BİLİMLERE GİRİŞ-I KURULU.....	6
1. LABORATUVAR EKİPMANLARININ TANITIMI VE PROKARYOT VE ÖKARYOT HÜCRELERİN İNCELENMESİ	6
2. İNSAN KROMOZOMLARININ İNCELENMESİ.....	8
TIBBİ BİLİMLERE GİRİŞ-II KURULU.....	10
3. MİTOZ VE MAYOZ BÖLÜNMENİN İNCELENMESİ	10
4. DNA İZOLASYONU.....	12
KAYNAKLAR	14

ÖĞRENİM ÇIKTILARI ve DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ

KURUL ADI	DENEYİN ADI	ÖĞRENİM ÇIKTISI	DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ
Tıbbi Bilimlere Giriş-I	Laboratuvar Ekipmanlarının Tanıtımı ve Prokaryot ve Ökaryot Hücrelerin İncelenmesi	Laboratuvar güvenliğinin önemini belirtir.	ÇSS, AUS*, BD*
		Laboratuvar ekipmanlarını listeler.	ÇSS, AUS*, BD*
		Laboratuvar malzemelerini sınıflar.	ÇSS, AUS*, BD*
		Işık mikroskobu kısımlarını tanımlar.	ÇSS, AUS*, BD*
		Işık mikroskopunda preparat inceleyip prokaryotik hücre, ökaryotik hücre farklarını sayar.	ÇSS, AUS*, BD*
	İnsan Kromozomlarının İncelenmesi	İnsan kromozomlarını gruplayabilir.	ÇSS, AUS*, BD*
		İnsan kromozomlarını sayabilir ve özelliklerini açıklayabilir.	ÇSS, AUS*, BD*
İnsan kromozomlarını ışık mikroskobu ile inceleyerek gruplandırabilir.		ÇSS, AUS*, BD*	
Tıbbi Bilimlere Giriş-II	Mitoz ve Mayoz Bölünme	Işık mikroskopunda preparat inceleme basamaklarını sayar.	ÇSS, AUS*, BD*
		Işık mikroskopunda hücre bölünmesi evrelerini tanımlar.	ÇSS, AUS*, BD*
		Hücre bölünmesi preparatlarında kromozomları gösterir.	ÇSS, AUS*, BD*
		Hücre bölünmesi preparatlarında alan taramasının önemini belirtir.	ÇSS, AUS*, BD*
	DNA Eldesi	İzolasyon basamaklarını sayar.	ÇSS, AUS*, BD*
		Hücre zarının parçalanması işlemini tanımlar.	ÇSS, AUS*, BD*
		Protein denatürasyonu için kullanılması gereken kimyasalı belirtir.	ÇSS, AUS*, BD*
		Protein denatürasyonunu tanımlar.	ÇSS, AUS*, BD*
		DNA'yı çöktürme basamağını açıklar.	ÇSS, AUS*, BD*

ÇSS: Çoktan Seçmeli Sınav, AUS: Açık Uçlu Soru, BD: Boşluk Doldurma

*Mazeret sınavlarında uygulanılır

LABORATUVARDA UYULMASI GEREKEN KURALLAR

1. Laboratuvarda sessiz çalışılmalıdır.
2. Laboratuvara önlükle gelinir. Laboratuvar süresince önlük çıkarılmaz. Çalışırken önlüğün önü ilikli olmalıdır.
3. Her öğrenci kendisine ayrılan bölümü ve malzemeleri kullanmalıdır.
4. Çalışmanın bitiminde, her öğrenci kullandığı malzemeleri temizlemeli ve görevlilere temiz ve düzenli olarak teslim etmelidir.
5. Laboratuvarda kimyasal maddelere el sürülmez, koklanmaz, tadına bakılmaz.
6. Deneylerde mümkün olduğu kadar az madde kullanılmalı ve madde israfından kaçınılmalıdır. Stok şişelerinden gereği kadar madde alınmalı, artanlar stok şişesine boşaltılmamalıdır.
7. Çalışmalarda kirli malzeme kullanılmamalıdır.
8. Uçucu, yanıcı ve patlayıcı (eter, alkol, kloroform vb.) madde şişelerinin ağzları devamlı kapalı tutulmalı, yanında çakmak, kibrit gibi yakıcı maddeler kullanılmamalıdır.
9. Çözelti hazırlanıyorsa onun uygun şartlarda saklanması gerekir. Reaktiflerin üzerlerine reaktiflerin adı, hazırlayanın adı, hazırlanma tarihi ve biliniyorsa son kullanma tarihi yazılır. Son kullanma tarihi geçmiş reaktifler kullanılmamalıdır.
10. Saf su yerine kesinlikle çeşme suyu kullanılmamalıdır.
11. Kimyasal bir madde ile özellikle asit ve alkalilerle temasta, temas bölgesi bol su ile yıkanmalı ve derhal ilgililere haber verilmelidir.
12. Her çalışmadan sonra eller sabunla yıkanmalıdır.
13. Kullanımı bilinmeyen cihazlar kullanılmamalıdır.
14. Çalışma bitince her grup aldığı malzemeyi sağlam ve temiz olarak teslim etmelidir.
15. Görevliden izinsiz laboratuvarı terk etmek yasaktır.
16. Her laboratuvar çalışması sonunda yoklama kağıdı mutlaka imzalanmalıdır.
17. Bu deneylerde kırılabilir cam malzemeler kullanılmaktadır. Bir malzeme kırıldığında hiçbir şeye dokunulmamalı ve deney sorumlusuna haber verilmelidir.

TIBBİ BİLİMLERE GİRİŞ-I KURULU

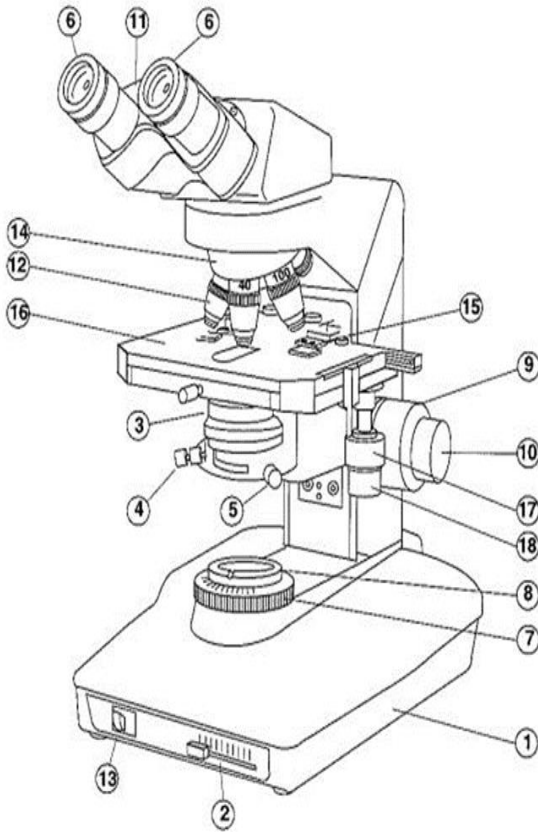
1. LABORATUVAR EKİPMANLARININ TANITIMI VE PROKARYOT VE ÖKARYOT HÜCRELERİN İNCELENMESİ

LABORATUVAR: ANK-215 (Multidisipliner Laboratuvarı)

ÖĞRENİM ÇIKTISI
Laboratuvar güvenliğinin önemini belirtir.
Laboratuvar ekipmanlarını listeler.
Laboratuvar malzemelerini sınıflar.
Işık mikroskobu kısımlarını tanımlar.
Işık mikroskopunda preparat inceleyip prokaryotik hücre, ökaryotik hücre farklarını sayar.

AMAÇ: Mikroskop parçalarının tanınması ve doğru mikroskop kullanımı ile prokaryot ve ökaryot hücrelerin incelenmesi.

Mikroskop tanıtımı ve Kullanımı:



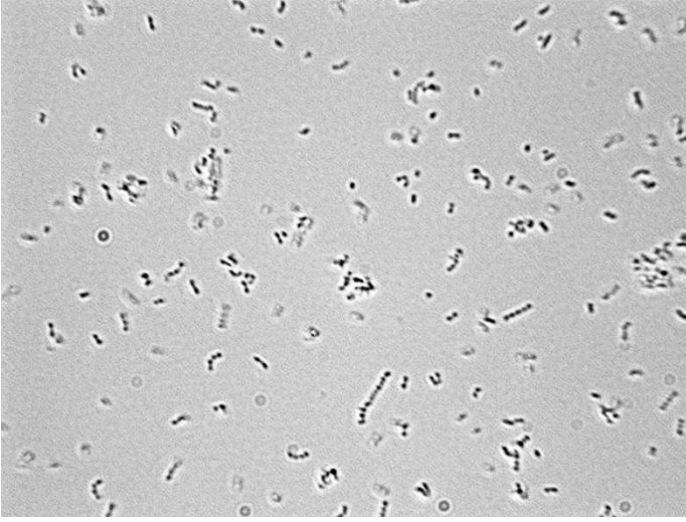
1. Alt kaide.
2. Aydınlatma kontrol kadranı. Işık yoğunluğunun kontrol edilmesini sağlar.
3. Kondansör. Mercek sistemidir, ışık kaynağından veya aynadan gelen ışınları örnek üzerinde toplar, örneğin aydınlatılmasını sağlar.
4. Diyafram kontrol halkası.
5. Kondansör hizalama vidası.
6. Göz merceği (oküler)
7. Alan diyaframı kontrol halkası. Aydınlanma alanını/menzilini sınırlar.
8. Aydınlanma (Işık) kaynağı
9. Kaba ayar düğmesi (makrovida)
10. İnce ayar düğmesi (mikrovida)
11. Göz mesafesi ayarlama konsolu
12. Objektif lensleri. Objektif lensin kuvveti, mikroskopun çözünürlüğünü belirler.
13. Güç düğmesi. Işık kaynağını açıp kapamamızı sağlar.
14. Hareketli revolver
15. Sıkıştırma klipsleri
16. Nesne tablası
17. X-aksisi kontrol düğmesi (Şaryo). Preparatı sağa ve sola hareket ettirmemizi sağlar
18. Y-aksisi kontrol düğmesi (Şaryo). Preparatı ileri ve geri hareket ettirmemizi sağlar.

Uygulama: Prokaryotik ve ökaryotik hücrelerin incelenmesi

Amaç: Yoğurt suyunda bakterilerinin ışık mikroskopunda incelenmesi ve ökaryotik hücre preparatlarında ökaryot hücrelerin incelenmesi

Araç ve gereçler: Mikroskop, lam, lamel, pastör pipeti, kurutma kâğıdı (peçete), yoğurt suyu, hazır ökaryotik hücre preparatları

Yöntem: 1. Prokaryot hücreler için yoğurt suyu bir hafta oda sıcaklığında bekletilir. Lam üzerine 1-2 damla yoğurt suyu damlatılır. Üzerine lamel kapatılır. Mikroskopun 4X veya 10X objektifinde görüntü alanı bulunur, ardından 40X objektiflerde incelenir ve çizim yapılır. **2.** Ökaryotik hücre preparatı mikroskoba yerleştirilir. Mikroskopun 4X veya 10X objektifinde görüntü alanı bulunur, ardından 40X objektiflerde incelenir ve çizim yapılır.



Şekil 1: Yoğurt suyundaki bakteriler (40x objektif altında)

Sonuç ve Tartışma:

2. İNSAN KROMOZOMLARININ İNCELENMESİ

LABORATUVAR: ANK-215 (Multidisipliner Laboratuvarı)

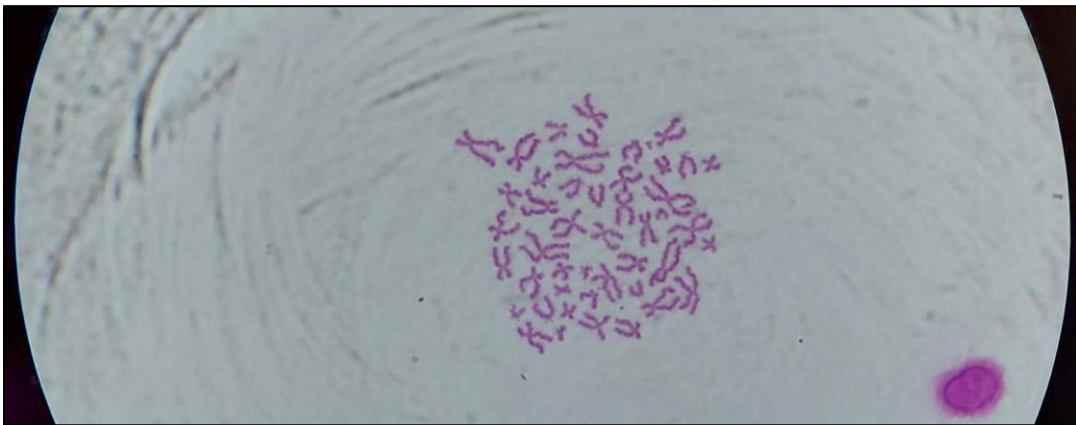
ÖĞRENİM ÇIKTISI
İnsan kromozomlarını gruplayabilir.
İnsan kromozomlarını sayabilir ve özelliklerini açıklayabilir.
İnsan kromozomlarını ışık mikroskobu ile inceleyerek gruplandırabilir.

Temel Bilgi: İnsan 46 kromozoma sahiptir. Bunlar çiftler halinde bulunur ($2n = 46$). Kromozomlar hücre çekirdeğinde bulunurlar. Hücre döngüsünün mitotik evresi dışında, kromozomlar interfaz çekirdeğinde yumak halindedir ve her bir kromozom birbirinden ayırt edilemez. Fakat mitotik evrenin fazlarında (profaz metafaz, anafaz ve telofaz) kromozomlar görünür hale gelir. Tam anlamıyla metafaz aşamasında kromozomlar incelenebilmektedir. Hücrelere fiksatif kimyasal uygulanmasıyla, hücreler oldukları fazda kalırlar ve lam üzerinde incelenmek üzere boyanmış preparatları hazırlanır. Mikroskop altında 46 kromozomunda belirgin olduğu ve kromozom bantlanmalarının açık olduğu hücre bulunup analiz için kaydedilir. Bu uygulamada mevcut preparatlarda metafaz kromozomları tüm alanın tarayarak bulmayı ve kromozomların boy, şekil ve bantlanma profillerinin birbirinden farkının incelenmesi amaçlanmaktadır.

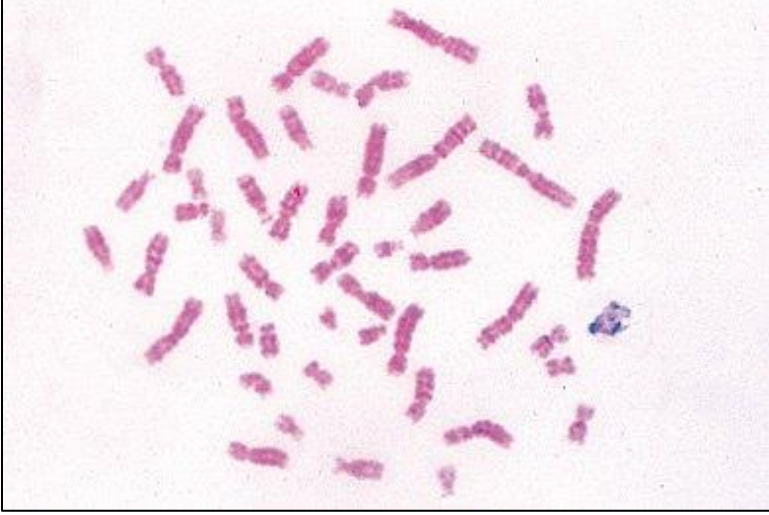
Uygulama: İnsan Kromozomlarının incelenmesi

Materyal: İnsan metafaz kromozomlarını içeren preparat (kırmızı kemik iliği), Mikroskop.

Metot: Preparat mikroskoba sabitlenerek yerleştirilir. 4x objektifi ile görüntü alanı bulunur. Sırasıyla 10x ve 40x objektiflere geçerek odaklama yapılır. Metafaz kromozomları (şekil 1'deki gibi) bulunana kadar preparat üzerinde gezilir. Bulunduktan sonra incelenir. (100x sadece immersiyon yağı kullanılması durumunda geçilebilir. Diğer türlü 100x'e geçmeyiniz.)



Şekil 2: 100x objektif altında kromozomların mikroskop görüntüsü



Şekil 3: G bantlanma profili belirgin metafaz kromozomu

Sonuç ve Tartışma



TIBBİ BİLİMLERE GİRİŞ-II KURULU

3. MİTOZ VE MAYOZ BÖLÜNMENİN İNCELENMESİ

LABORATUVAR: ANK-215 (Multidisipliner Laboratuvarı)

ÖĞRENİM ÇIKTISI
Işık mikroskopunda preparat inceleme basamaklarını sayar.
Işık mikroskopunda hücre bölünmesi evrelerini tanımlar.
Hücre bölünmesi preparatlarında kromozomları gösterir.
Hücre bölünmesi preparatlarında alan taramasının önemini belirtir.

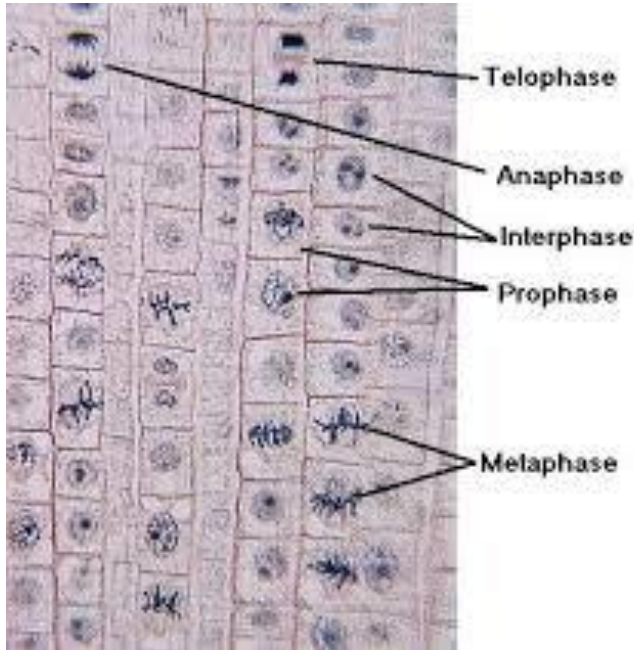
Uygulama: Mitoz ve Mayoz bölünmenin incelenmesi

Amaç: Mitoz ve Mayoz bölünme aşamaları sırasında meydana gelen farkları öğrenmek.

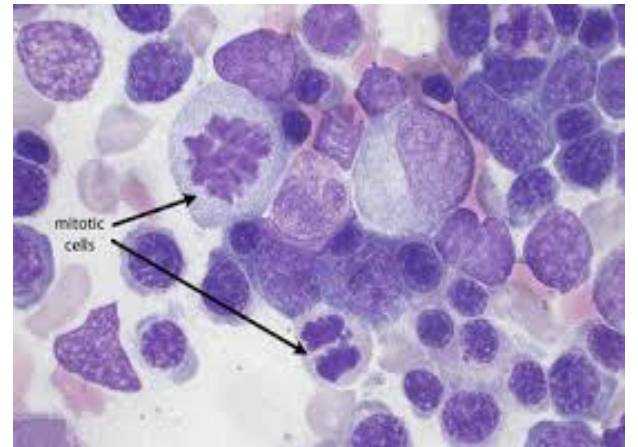
Malzemeler: Soğan kökü kesiti, memeli kemik iliği, fare testisi kesiti

Yöntem: Slayt mikroskoba yerleştirilir. 4x objektifi kullanılarak görüntü alanı bulunur. Sırasıyla 10x ve 40x objektifleri kullanılarak görüntü odaklanır. Mikroskop altında mitoz (Soğan kökü kesiti ve memeli kemik iliği örnekleri) ve mayoz (fare testisi kesiti) bölünme aşamaları bulunur. Aşamalar ve farkları incelenir.

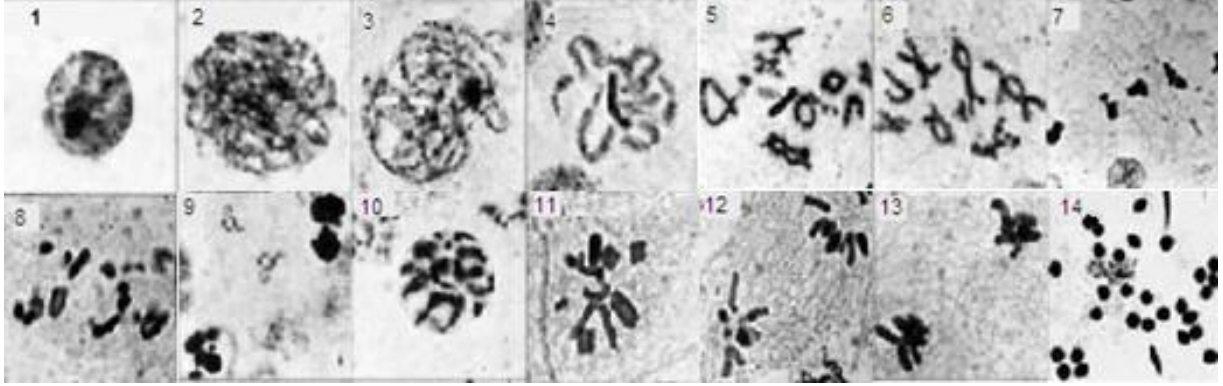
Soğan kökünde mitotik aşamalar



Kemik iliğinde mitotik aşamalar



Fare testisinde mayoz bölünmenin aşamaları



- 1- İnterfaz 2. Leptoten 3. Zigoten 4. Pakiten 5. Diploten 6. Diakinez
7. Metafaz - I 8. Anafaz - I 9. Teleofaz - I 10. Profaz - II
11. Metafaz - II 12. Anafaz - II 13. Telofaz - II 14. Spermatidler (Spermler).

Sonuç ve Tartışma:

4. DNA İZOLASYONU

LABORATUVAR: ANK-215 (Multidisipliner Laboratuvarı)

ÖĞRENİM ÇIKTISI
İzolasyon basamaklarını sayar.
Hücre zarının parçalanması işlemini tanımlar.
Protein denatürasyonu için kullanılması gereken kimyasalı belirtir.
Protein denatürasyonunu tanımlar.
DNA'yı çöktürme basamağını açıklar.

Temel bilgiler: Bazı kimyasal maddeler ve enzimler ile canlı hücelere ait hücre zarı veya canlı hücre duvarının yıkılıp DNA'nın ortaya çıkarılmasına **DNA izolasyonu** denir. Amaç DNA'nın saf ve yüksek moleküler ağırlıkta elde edilmesidir. Prokaryot ve ökaryotlarda çekirdekdeki DNA'nın eldesi için öncelikle hücre zarlarının parçalanması gerekir. Bu işleme "lisis" denir. Membranın parçalanması ile elde edilen örnekte; DNA ile birlikte proteinler, hücre yapı artıkları ve diğer moleküller bulunur.

SDS (Sodyum Dodesil Sülfat), iyonik bir deterjandır. Üzerindeki sülfat grupları nedeni ile negatif elektrik yüklüdür. SDS, hidrofobik kısımları ile proteinlerin yine hidrofobik bölgelerine bağlanır. SDS bağlanması, proteinin ikincil, üçüncül ve dördüncül yapısını bozar.

NaCl, suda tamamen çözünerek Na^+ ve Cl^- iyonlarına ayrışır. Pozitif yükü Na^+ iyonları, proteinlere bağlanmış olan negatif yüklü SDS' a bağlanarak proteinlerin kütlelerini artırır ve proteinlerin çökmesi sağlanmış olur. Ayrıca DNA'daki negatif yüklü fosfat gruplarını nötralize ederek DNA'ların bir araya gelmesini sağlar.

Etanol, DNA'yı daha az hidrofilik yaparak solüsyonda çökmesini sağlar.

Uygulama: DNA izolasyonu

Amaç: Ağız içi epitel hücrelerinden DNA elde edilmesi

Araç ve gereçler: NaCl, sıvı bulaşık deterjanı, etanol, temiz kap, su

Yöntem:

- ✓ 100 ml su içine 5-6 g NaCl eklenerek çözelti hazırlanır.
- ✓ Hazırlanan çözeltinin 45 ml si ile 1 dakika boyunca gargara yapılır ve çözelti boş kaba boşaltılır. Bu şekilde ağız içi epitel hücreleri alınmış olur.
- ✓ Elde edilen doku örneğinin içine 5 ml bulaşık deterjanı eklenir ve yavaşça karıştırılır.
- ✓ Üzerine etanol eklenir ve kısa bir süre beklenir. Bekleme sonrasında bir pipet ya da kürdanı karışım içinde dairesel olarak hareket ettirerek DNA zincirinin çubuğa sarılması sağlanır.
- ✓ Elde edilen DNA, steril distile su ya da tris-EDTA içerisinde $+4^{\circ}\text{C}$ de saklanır.

Sonuç ve yorum:

KAYNAKLAR

Alberts, Bruce. *Molecular Biology of the Cell*. Sixth edition., Garland Science, Taylor and Francis Group, 2015.

Carson, Sue (Susan), et al. *Molecular Biology Techniques : A Classroom Laboratory Manual*. Fourth edition., Elsevier/Academic Press, 2019.

Goodman, Steven R., editor. *Goodman's Medical Cell Biology*. Fourth edition., Academic Press, 2021.

Hofmann, Andreas, and Samuel Clokie, editors. *Wilson and Walker's Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Eighth edition., Cambridge University Press, 2018.