

## BÖLÜM 3

# MOLEKÜLER PATOLOJİDE GENETİK TANI TEKNİKLERİ; GERÇEK ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (REAL-TIME PCR)

Mehmet AKSOY<sup>1</sup>  
Hatice ERÖKSÜZ<sup>2</sup>

## GİRİŞ

Modern tıbbın gelişmesi sonucunda “patoloji” ayrı bir uzmanlık alanı olarak ortaya çıkar. Patoloji bilimi gelişimini, hastalıkların canlı vücudunda meydana getirdiği değişiklikleri klinik bulgularla beraber ele alıp, hastalıkların tanımlanmasına yardım eden otopsi ile sağlar. Otopsi sonucu elde edilen bilgiler ışığında bir bilim disiplini olarak patolojinin başladığı söylenebilir(1).

Patoloji biliminin rutinini, formalin ile tespiti yapılan, sonrasında parafine gömülen dokulardan elde edilen kesitlerin, Hematoksilen-Eozin(H&E) ile boyanıp mikroskop ile incelenmesi oluşturmaktadır. Bu rutinin uygulanmasında dokuya parafinin infiltrasyonu ve boyanması gibi yöntemler, kesitler için mikrotom, değerlendirme yapabilmek için mikroskop gibi cihazlara ihtiyaç duyulmaktadır(2).

Patolojinin başlangıcından günümüze kadar olan gelişiminde, rutinde ihtiyaç duyulan yöntem ve ekipmanlardaki yenilikler şeklinde çıkmaktadır. Tespit solüsyonlarının çeşitlenmesi, mikroskop teklonojisinin gelişmesi, doku bloklama tekniklerinin yenilenmesi, frozen, histokimya, immunohistokimya, floresan mikroskopi, elektron mikroskopi ve bunlara ek olarak moleküler patoloji bugünkü patoloji biliminin basamak taşlarını oluşturmaktadır(2).

---

<sup>1</sup> Doktora Öğrencisi, Fırat Üniversitesi Elazığ Veteriner Kontrol Enstitü Müdürlüğü, mehmetaksoy933@gmail.com ORCID iD: 0000-0002-8484-9292

<sup>2</sup> Prof. Dr., Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, heroksuz@firat.edu.tr ORCID iD: 0000-0002-8407-5792

Problar, cihaz içerisinde gerçekleştirilen çoğaltma işlemi sonrasında, ürünlerin gözle görülür hale getirilmesini sağlayan, belirli dalga boylarında floresan ışımaya yapabilen florofor yapısında sentetik oligonükleotitlerdir. Probların doğru şekilde çalışıp ışımaya verebilmeleri için hedef DNA'ya özgü dizayn edilmeleri gerekmektedir (23).

Real-time PCR yönteminde floresan kimyası, genel yöntemler ve zincire özgül yöntemler olarak iki sınıf altında incelenebilir:

Genel yöntemlerde DNA'ya spesifik olmadan eşleşen problar kullanılır. Bu amaçla kullanılan problar, tüp içerisinde çoğaltılan bütün çift zincirli DNA yapılarına bağlanarak floresan ışımaya verirler. Bu yöntem için tercih edilen en yaygın boya SYBR Green İ'dir.

Zincire spesifik yöntemlerde tercih edilen problar ise, primer bağlanma bölgeleri içerisindeki hedef DNA'nın komplementer bir bölgesine eşlenerek floresan ışık saçarlar. Bu yöntemleri öne çıkaran neden, spesifik olmayan primer-dimer bağlanması gibi çoğaltma ürünlerinde floresan ışımaya olmamasıdır. Bu yüzden spesifiklikleri daha fazladır ve sinyal oluşumu daha güzel elde edilir. Bu yöntemde en sık TaqMan Prob yöntemi, Moleküler Boncuk yöntemi, Hibridizasyon Prob yöntemi gibi floresan işaretli boyalar kullanılır(23,28).

**Tablo 2. Real Time PCR'in avantaj ve dezavantajları.**

Avantajlar	Dezavantajlar
Eş zamanlı Amplifikasyon	Yüksek Ekipman İhtiyacı.
Analize özgü Reaktifler	Alanında uzman personele gerek vardır.
Geliştirilmiş Standardizasyon	Cihaz, alet ile ekipmanları pahalıdır.
PCR sonrası elektroforez gerekmez	Laboratuvar alt yapısı gerektirir.
Floresan temelli tespit	
Hızlı	
Nicel	

## KAYNAKLAR

1. Usubütün, A., Gedikoğlu, G. (2007). Development of pathology in Turkey. *Turk J Pathol*, 23, 68-73.
2. Yörükoğlu, K. *Hematoksilen-Eozin'den Moleküler Tekniklere: Patolojinin Tarihçesine Kısa Bir Bakış*. İzmir : , 2017, Cilt Doi: 10.5146/Jcpath.2017.01.
3. Ergin, M. *Moleküler Patoloji*. 103-107, Adana : Aegean Pathology Journal, 2004, Cilt 1.
4. Demirağ, F. 1, *Moleküler Patolojinin Kapsamı Ve Rolü*. Ankara : Türkiye Klinikleri J Radiat Oncol-Special Topics, 2016, Cilt 2. 70-5.

5. Ginsburg, Gs., Ross Js *The Integration Of Molecular Diagnostics With Therapeutics: Implications For Drug Development And Pathology Practice*. American Journal Of Clinical Pathology 119, : 2003. 23-36.
6. Elçin, Y.M., "Moleküler Tanı Sistemleri". [https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/71971/mod\\_resource/content/0/7.%20Hafta.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/71971/mod_resource/content/0/7.%20Hafta.pdf) 29.10.2023
7. Kızmaz, M. Z., P. İsmail C. ve Erkan, S. , Dna Dizilemenin Tarihsel Gelişimi. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 2017, Cilt 6. 47-53.
8. Altıntaş, A., "Nükleik Asitler". [https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/1004/mod\\_resource/content/1/8.%20N%C3%BCKleik%20asitler.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/1004/mod_resource/content/1/8.%20N%C3%BCKleik%20asitler.pdf) 29.10.2023
9. Yılmaz, E., "Nükleik Asitlerin Yapısı, Fonksiyonu ve Genom Organizasyonu". Türk Hematoloji Derneği. [http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/molhem\\_01.pdf](http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/molhem_01.pdf) 29.10.2023).
10. Stryer, L., Biochemistry, New York: W.H. Freeman and Company, 1999
11. Nükleik Asitler, [https://gavsispanel.gelisim.edu.tr/Document/ggencdal/20190412112610475\\_81aa065d-1686-4631-bd2e-0ad34072a2c1.pdf](https://gavsispanel.gelisim.edu.tr/Document/ggencdal/20190412112610475_81aa065d-1686-4631-bd2e-0ad34072a2c1.pdf), 29.10.2023
12. Champe, P. C. ve Harvey, R. A. Biyokimya, Nobel Tıp Kitap Evleri, 1997.
13. Temizkan, G. ve Arda, N., Temel ve İleri Moleküler Biyoloji Yöntemleri Genomik ve Proteomik Analizler. İstanbul : Nobel Tıp Kitabevleri, 2017.
14. Zhu H, Zhang H, Xu Y, Laššáková S, Korabečná M, Neužil P, 2020: PCR past, present and future. BioTechniques, 69 (4), 317-325.
15. Mullis KB, 1990: The unusual origin of the polymerase chain reaction. Sci Am, 262 (4), 56-65.
16. Kahya, S. Büyükcangaz, E. ve Çarlı, K.T., Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Optimizasyonu. Uludağ University J.Fac. Vet.Med., 2013, Cilt 1. 1:31-38.
17. Sayitoğlu, M.A., "Hematolojide Real Time PCR". <http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/mugeaydinsayitoglu.pdf> 29.10.2023.
18. Zamani, A.G., Genetik Tanı Yöntemleri., Konya : Türk Toraks Derneği Okulu.
19. Price CW, Leslie DC, Landers JP, 2009: Nucleic acid extraction techniques and application to the microchip. Lab Chip, 9, 2484-2494.
20. Tekin K, Aygar İS, Hoşbul T, 2020: Basic Principles of Polymerase Chain Reaction Technology. J Mol Virol Immunol, 1 (1): 57-66.
21. Kavsaoğlu AR, Mersinkaya İ, 2019: Python ile Mini Jel Elektroferez Kontrol Yazılımı ve Sistem Tasarımı. GU J Sci Part C, 7 (4), 969- 984.
22. Okutucu, B. ve Pehlivan S. Revers-Trankriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Rt-Pcr) Ve Uygulama Alanları., Arşiv, 2003, Cilt 12., Çakmak, A.I. Türkiye'de Satışa Sunulan Bazı Gıda Ürünlerinde Genetik Modifiye Mısır Bileşenlerinin Aranması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010
23. Querci, M., Jermini, M. ve Eede, G. V. D. JRC European Commission. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/13061464-793e-11ea-b75f-01aa75ed71a1/language-en>. 29.10.2023
24. Sluijter, J. P. G., Pasterkamp, G., & De Kleijn, D. P. V. (2006). Quantitative real-time PCR. Cardiovascular research: new technologies, methods, and applications, 75-83.
25. Green MR, Sambrook J, 2019a: Polymerase chain reaction. Cold Spring Harb Protoc, 436-456.
26. Türedi OK, Şeker E. (2023). Mikrobiyolojide En Yaygın Moleküler Tanı Yöntemi: Polimeraz Zincir Reaksiyonu. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 12(1): 118-125, DOI:10.31196/huvfd.1246738.
27. Kralik P, Ricchi M, 2017: A basic guide to Real Time PCR in microbial diagnostics: definitions, parameters, and everything. Front Microbiol, 8, 108.
28. Kömürcü, E. ve Erginel, N., Gen Anlatımı Analiz Yöntemlerine Genel Bakış. , İstanbul: Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Cilt 1. 28-35.
29. Çarhan, A. Ercan, E. ve Yalçınkaya, T., Dijital Pzr Ve Kullanım Alanları. , Türk Hij.Den.Biyol. Derg., 2016, Cilt 73(2). 183-198 183.
30. Günel, T., Gen Anlatımının Kantitatif Analizi "Real-Time PCR", İstanbul : Türkiye Klinikleri J Med., 2007. 763-767.
31. Hegyesi, H., Real Time PCR, <http://www.osski.hu/rendezvenyek/pcr2016/lectures/Real-Time%20PCR.pdf> 29.10.2023