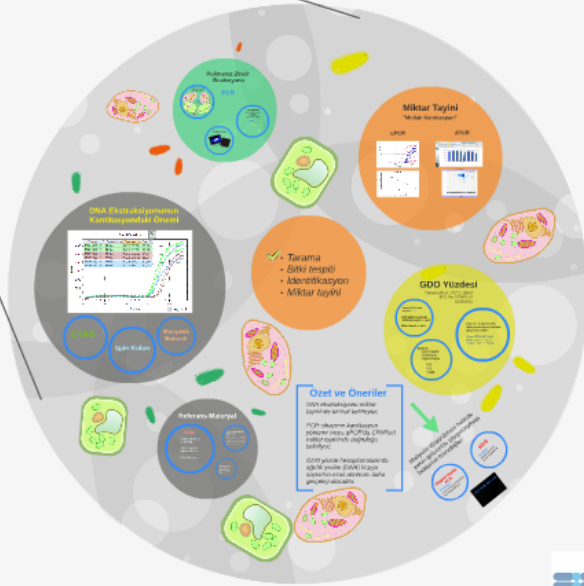


## GDO Miktar Analizinde Yeni PCR Teknolojilerinin Değerlendirilmesi

### Pınar AKALIN, Sentromer DNA Teknolojileri

[www.sentromer.com](http://www.sentromer.com)



sentromer®

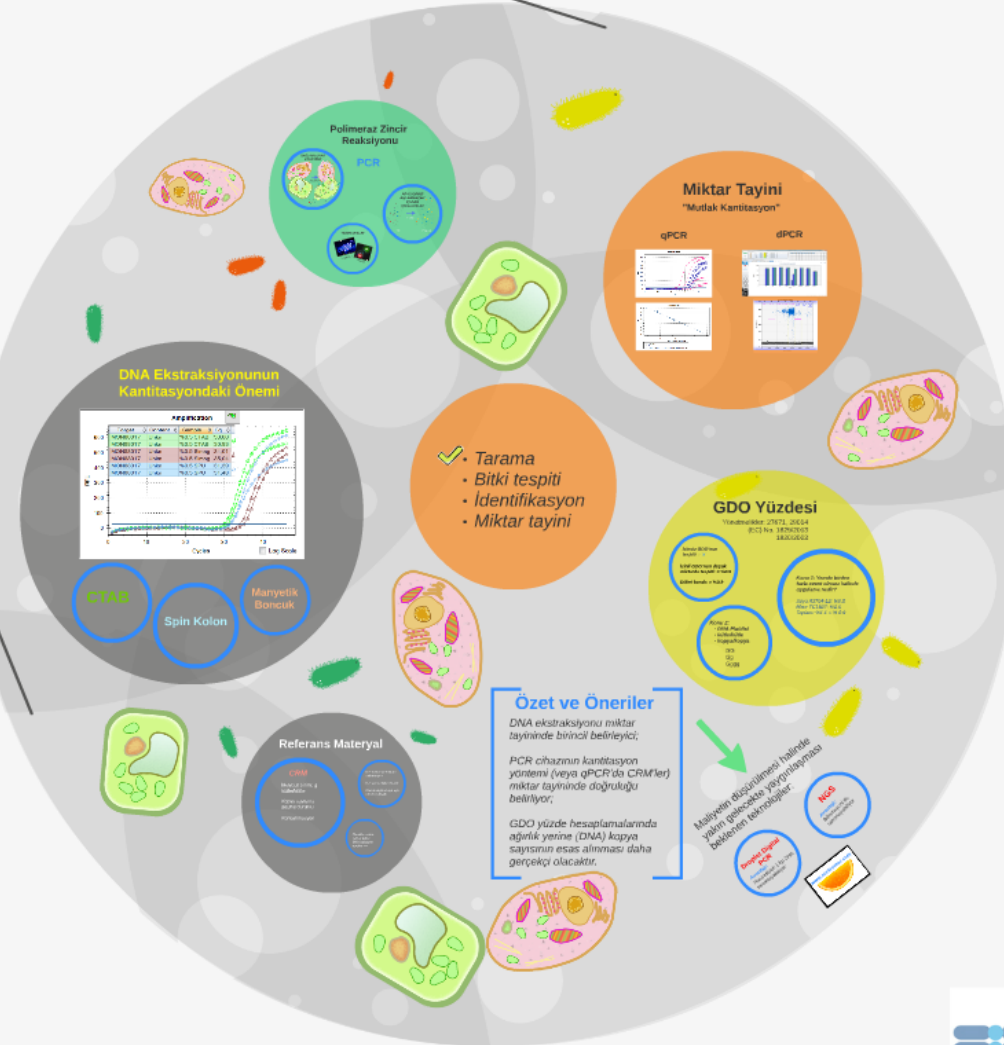




# GDO Miktar Analizinde Yeni PCR Teknolojilerinin Değerlendirilmesi

## Pınar AKALIN, Sentromer DNA Teknolojileri

[www.sentromer.com](http://www.sentromer.com)



**PCR**

# Polimeraz Zincir Reaksiyonu

## PCR

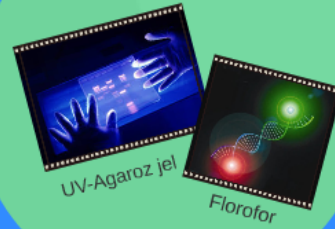
SAĞLAM DUVAR  
KALMASIN!



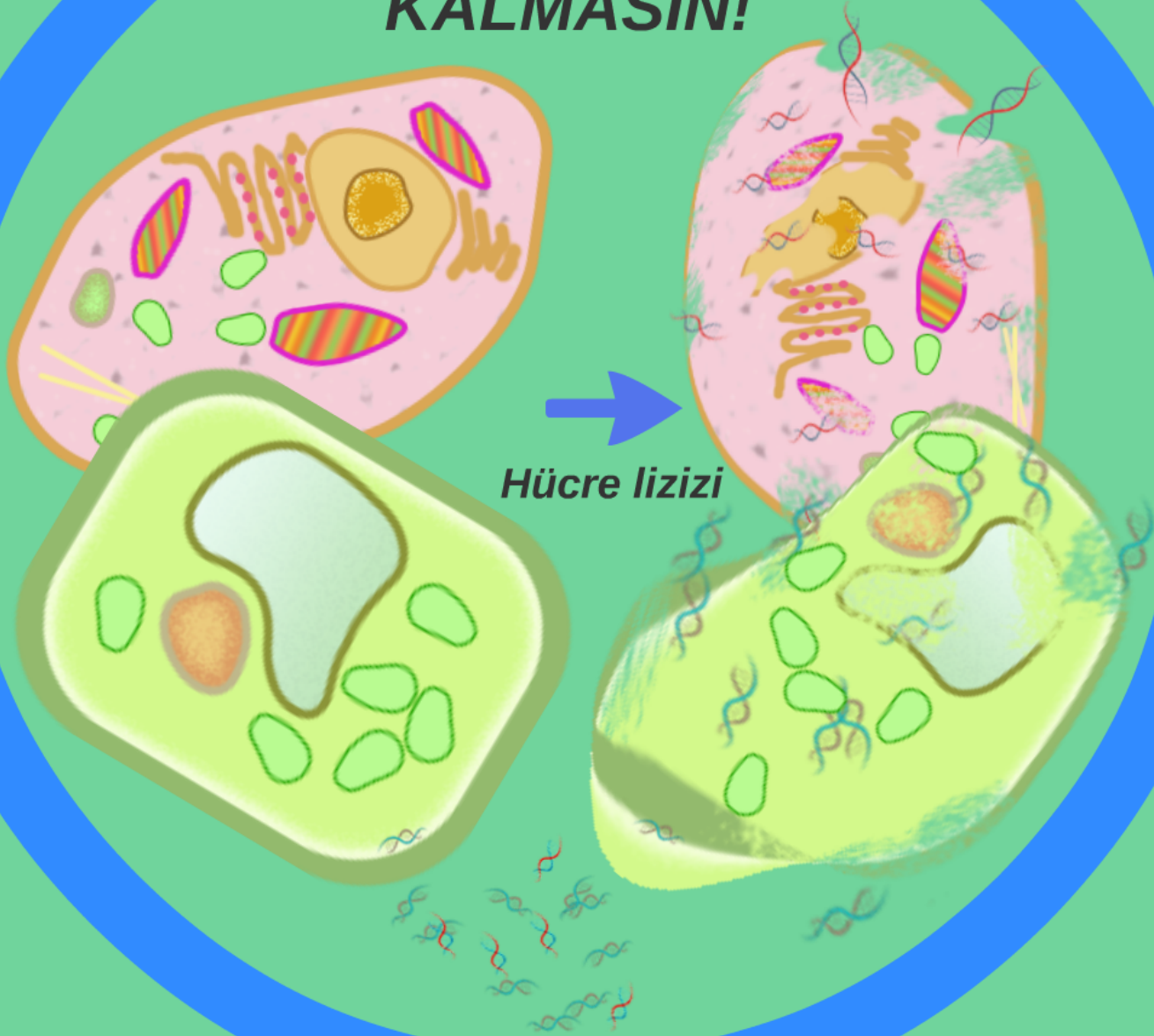
ARADIĞIMIZI  
BULABİLECEK  
KADAR  
ÇOĞALTALIM



TANIMLAYALIM

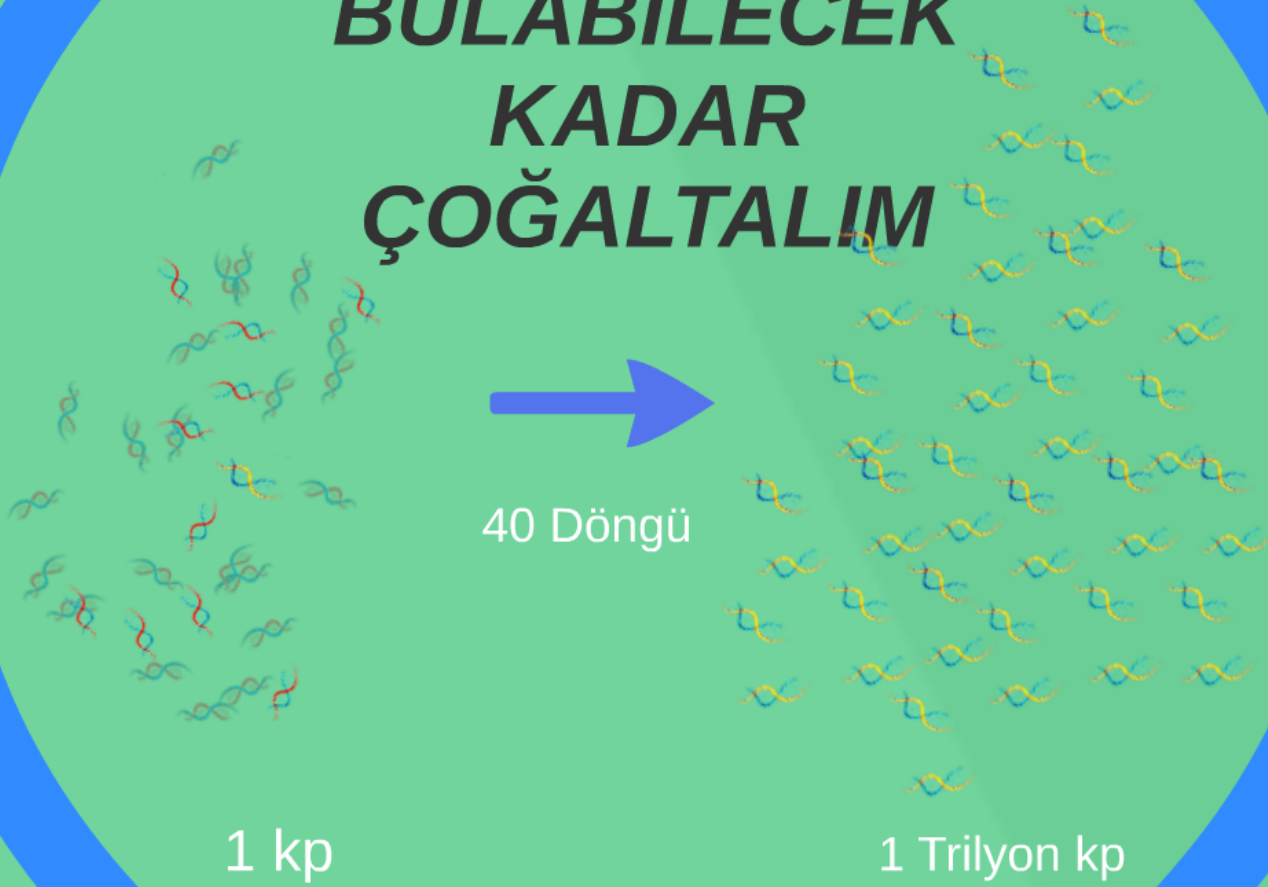


# SAĞLAM DUVAR KALMASIN!



Hücre lizisi

**ARADIĞIMIZI  
BULABİLECEK  
KADAR  
ÇOĞALTALIM**



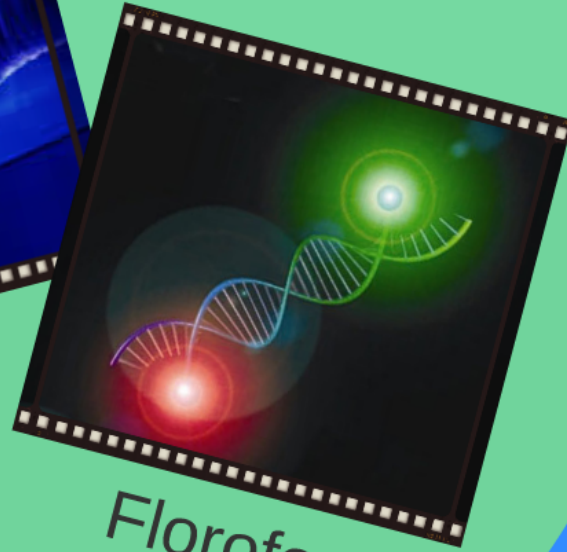
1 kp

1 Trilyon kp

# *TANIMLAYALIM*



UV-Agaroz jel



Fluorescence



- *Tarama*
- *Bitki tespiti*
- *İdentifikasyon*
- *Miktar tayini*



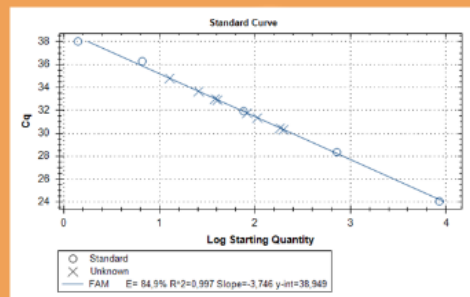
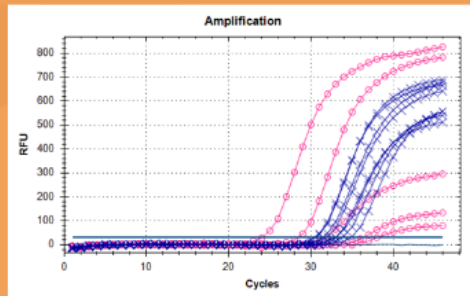
# Miktar Tayini

"Mutlak Kantitasyon"

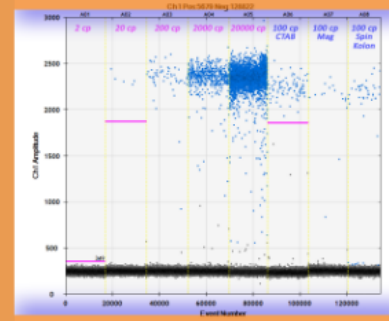
# Miktar Tayini

## "Mutlak Kantitasyon"

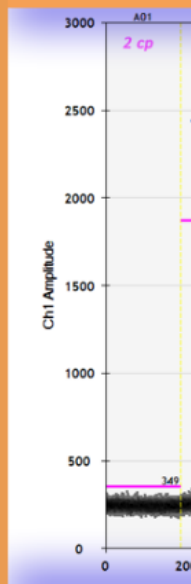
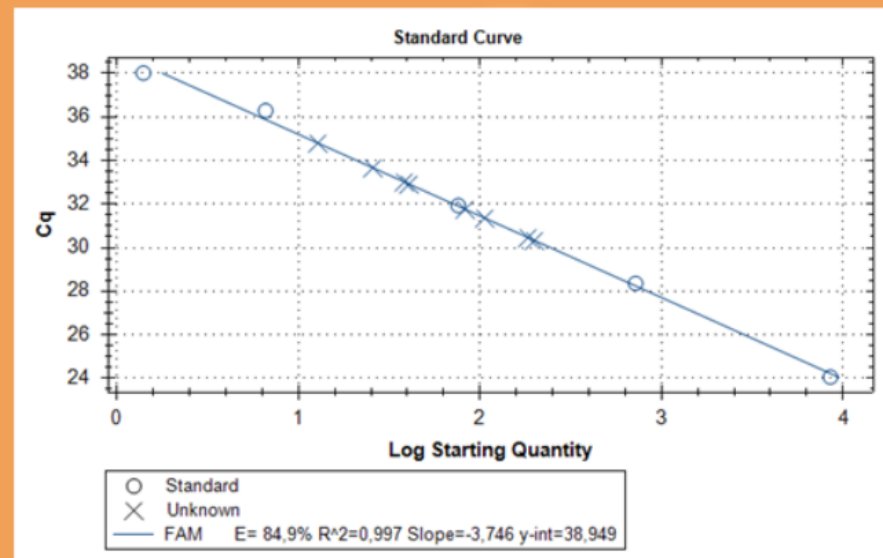
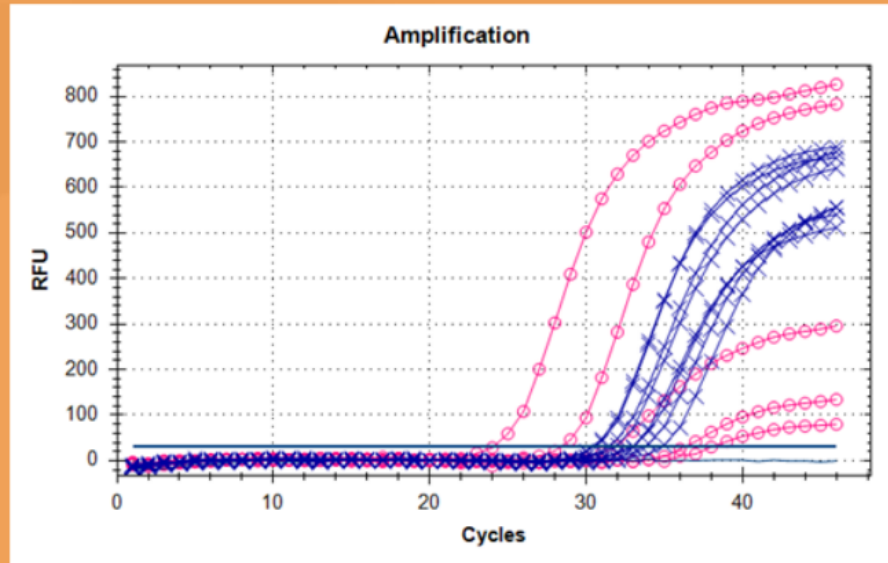
### qPCR



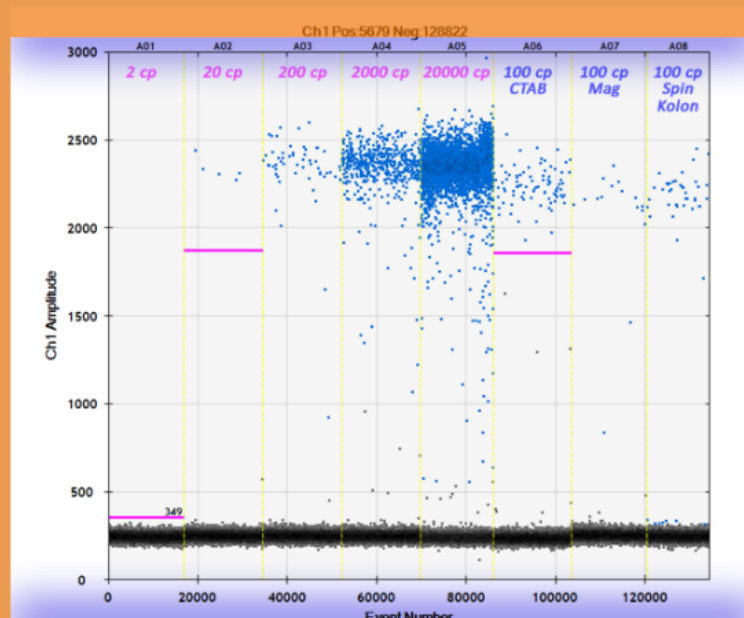
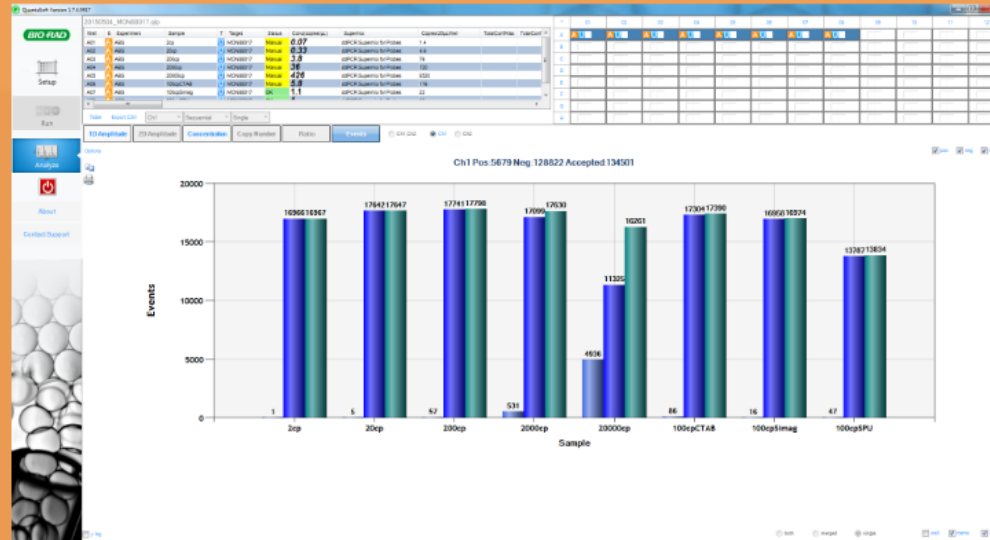
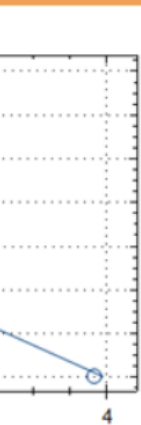
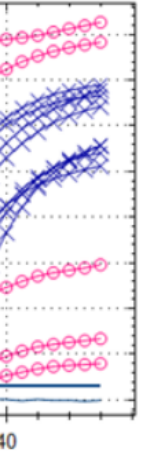
### dPCR



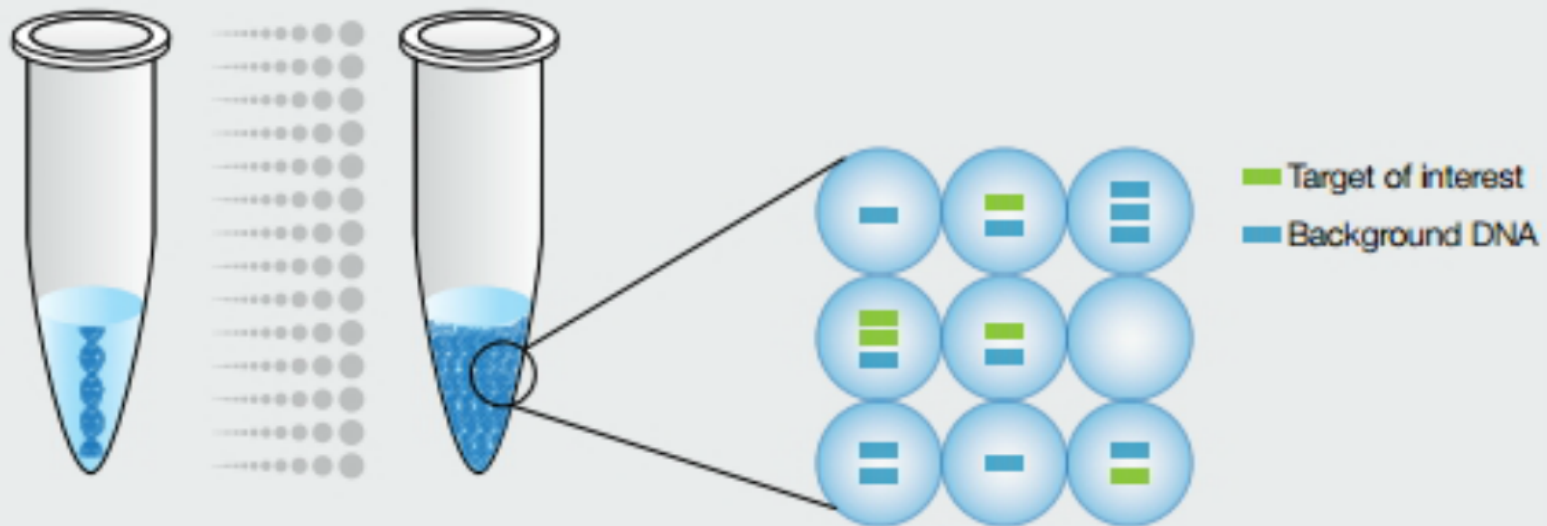
# qPCR



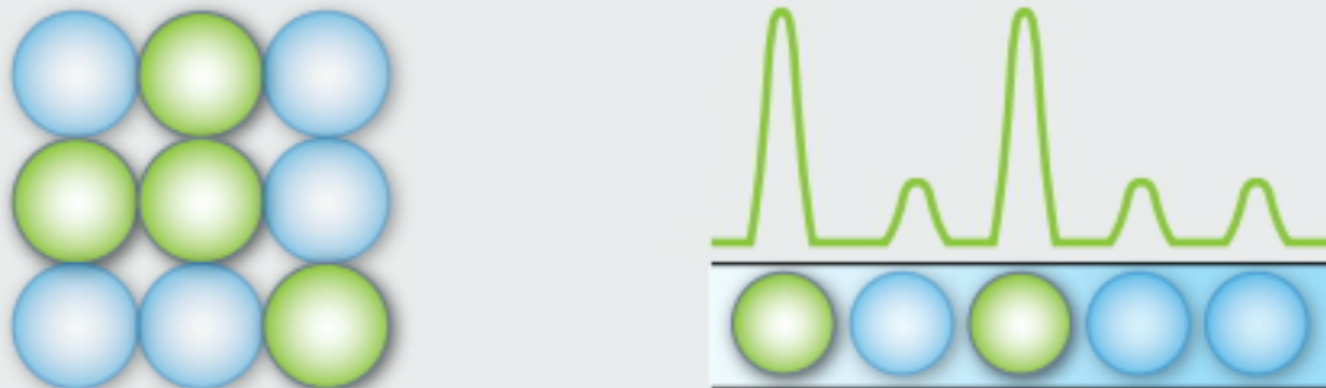
# dPCR



# Droplet Digital PCR

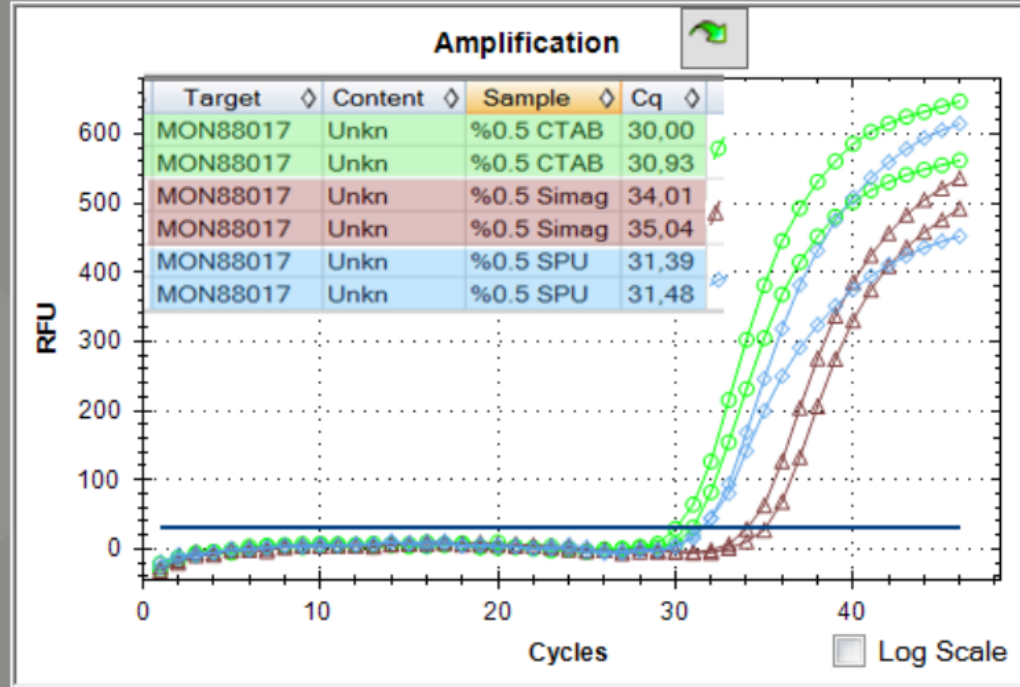


The sample is partitioned into 20,000 droplets, with target and background DNA randomly distributed among the droplets.



After PCR amplification, each droplet provides a fluorescent positive or negative signal indicating the target DNA was present or not present after partitioning. Each droplet provides an independent digital measurement.

# DNA Ekstraksiyonunun Kantitasyondaki Önemi



CTAB

Spin Kolon

Manyetik  
Boncuk

# GDO Yüzdesi

Yönetmelikler: 27671, 29014  
(EC) No. 1829/2003  
1830/2003

*İzinsiz GDO'nun  
tespiti : x*

*İzinli GDO'nun düşük  
miktarla tespiti: < %0.9*

*Etiket kuralı: > %0.9*

**Konu 1: Yemde birden  
fazla event olması halinde  
uygulama nedir?**

Soya A2704-12: %0.5  
Mısır TC1507: %0.6  
Toplam: %1.1 > % 0.9

**Konu 2:**

- DNA Ploidisi
- kütle/kütle
- kopya/kopya

GG  
Gg  
Gggg

**İzinsiz GDO'nun  
tespiti :  $x$**

**İzinli GDO'nun düşük  
miktar da tespiti:  $< \%0.9$**

**Etiket kuralı:  $> \%0.9$**



***Konu 1: Yemde birden fazla event olması halinde uygulama nedir?***

*Soya A2704-12: %0.5*

*Mısır TC1507: %0.6*

*Toplam: %1.1 > % 0.9*



## ***Konu 2:***

- ***DNA Ploidisi***
- ***kütle/kütle***
- ***kopya/kopya***

GG

Gg

Gggg

# *CRM*

Mevcut birim: g  
kütle/kütle

Kopya sayısına  
geçme durumu

Kontaminasyon

Stabilit  
Tekrar  
DNA iz  
gereks

Her event toz halinde  
bulunmuyor

Her seviye bulunmuyor

Olan seviyeleri ayrı ayrı  
almak maliyetli

# Referans Materyal

## *CRM*

Mevcut birim: g  
kütle/kütle

Kopya sayısına  
geçme durumu

Kontaminasyon

Her event toz halinde  
bulunmuyor

Her seviye bulunmuyor

Olan seviyeleri ayrı ayrı  
almak maliyetli

Stabilite sorunu  
Tekrar tekrar  
DNA izolasyon  
gereksinimi

# Referans Materyal

**CRM**

Mevcut birim: g  
kütle/kütle

Her event toz halinde  
bulunmuyor

Her seviye bulunmuyor

Olan seviyeleri ayrı ayrı  
almak maliyetli


# Özet ve Öneriler

*DNA ekstraksiyonu miktar tayininde birincil belirleyici;*

*PCR cihazının kantitasyon yöntemi (veya qPCR'da CRM'ler) miktar tayininde doğruluğu belirliyor;*

*GDO yüzde hesaplamalarında ağırlık yerine (DNA) kopya sayısının esas alınması daha gerçekçi olacaktır.*

Maliye  
yakı  
be



Maliyetin düşürülmesi halinde  
yakın gelecekte yaygınlaşması  
beklenen teknolojiler:

**Droplet Digital  
PCR**

**NGS**

*Avantajı:*

Geni de



# Droplet Digital PCR

*Avantajı:*

Hassasiyet! 1 kp DNA  
tanımlayabiliyor

# NGS

*Avantajı:*

Bilinmeyeni de tanımlayabiliyor

[www.sentromer.com](http://www.sentromer.com)

