

Hesabat

Sentyabr 23 /2013 – Oktyabr 04/2013

Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişafı Fondunun elan etdiyi 2-ci "Mobillik Qrantı" müsabiqəsinin xaricdə qısamüddətli təcrübəkeçmə proqramında iştirak etdim və bu müsabiqənin qalibi oldum.

Bütün xərclər Fond tərəfindən qarşılandı

Əsas məqsəd :Azərbaycanda yayılmış brucella tiplərinin differensiasiyası ,yanı Azərbaycanın ayrı-ayrı bölgələrində kənd təsərrüfatı heyvanları arasında bruselyoz xəstəliyinin hansı tipinin mövcudluğu müəyyənləşdirməkdir.

Gıda, Tarım və Hayvancılıq Bakanlığının Pendik Veterinar Kontrol və Araşdırma İnstitutundakı Brucella Aşıları Üretim Laboratuvarında (Brucella peyvənd istehsalı Laboratoriyası) iki həftə təcrübə keçdim

Laboratoriyanın əməkdaşları:

E. Ayhan BAKLAN –lab.müdiri təlimçi, Murat Saytenik -təlimçi,

BCSP 31 (Brucella cells surface protein) bu müayinə metodikası sadəcə brucella spp olub olmamasını göstərir(yani brucellanın mövcudluğunu)

Bu çox sadə və az zaman tələb olunan metodikadır.Bu metodikada alınmış təmiz brucella kulturasından müvafiq prosedura uyğun olaraq DNT-i izolyasiya etdik Eyni metodikadan istifadə edərək atılmış balanın daxili orqanından kommersiya kitindən istifadə edərək (QiAmp DNA Mini kit)ekstraksiya edib DNT-i əldə etdik.

Prosedura uyğun olaraq Master mix hazırladıq, üzərinə DNT-lər əlavə edib apparata qoyduq.

Gel hazırladıq .Apparatdan çıxmış amplikonlar gelə daxil edib elektroforezə qoyduq.

Prosedur:

Su- 464.75 mkl

Primer mix – 11 mkl

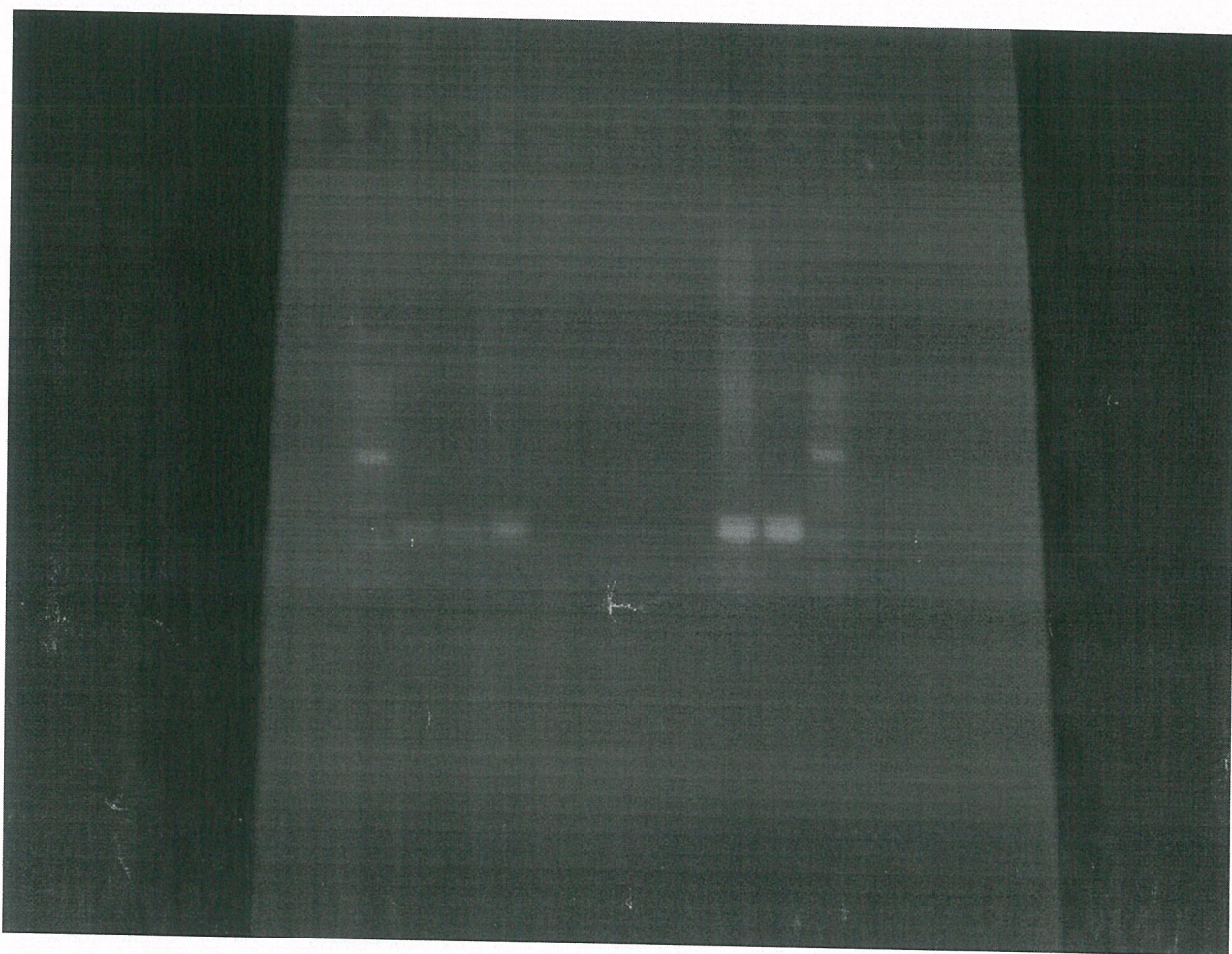
dNTP (20mm)- 5.5mkl

PCR buffer – 55 mkl

Taq polimeraz – 2.75mkl

Toplam 539 mkl bu miqdar 10 nümünə üçün kifayət edir. Hər balaca PZR tyubuna 49 mkl hazırlanmış miks üzərinə 1 mkl amplikon (nümünə) əlavə etdik. Cəmi olur 50 mkl və bu tyublar qoyulur cihaza (Thermo Cycler). Cihazdan çıxdıqdan sonra hazırlanmış gelə daxil etdik. Qoyduq elektroforezə 100 V 30 dəq. Vaxt bitdikdən sonra ehtiyatla geli götürüb və xüsusi qaranlıq otaqda UV ultrabənövşəyi şua altında nəticələrə baxdıq.

Alınmış nəticələrin təhlili.



Gelin hazırlanması (Aqarose jel):

100 ml gelin hazırlanması üçün 1.5 qr aqar + TAE buffer, 10 X əridilir mikrodalğalı sobada + 1 mkl etidium bromid əlavə edib töküür formaya, soyudulur 30-40 dəq.

Multiplex PZR

Brucella tiplərinin differensiasiyası

Bu metodikada müvafiq 9 cüt (18) praymerlərdən istifadə edildi.

9 cüt praymerlər liofilizə olur ilk öncə onlar sentrofuqadan keçirilir, sonra üzərində göstərilən miqdarda su əlavə edilib durulaşdırılır. Yəni BCSP-31 olduğu kimi həll edilən praymerlərdən 10 mkl götürüb bir boş eppendorfa tökdük 9 cüt praymer =18, Cəmi alındı 180 mkl+320 mkl su əlavə etdik, toplam 500 mkl praymer mix əldə etdik.

Master mix Qiaqen firmasından istifadə etdik.

1 reaksiya üçün (nümunə)

Qiaqen Master mix -12.5 mkl

Primer mix 2 pmol/mkl - 2.5 mkl

DEPC su- 9 mkl

Cəmi 24 mkl üzərinə 1mkl DNT template

Qoyduq cihaza proqramlaşdırdıq

1 sikl 95° – 15 dəq X 1 dəfə

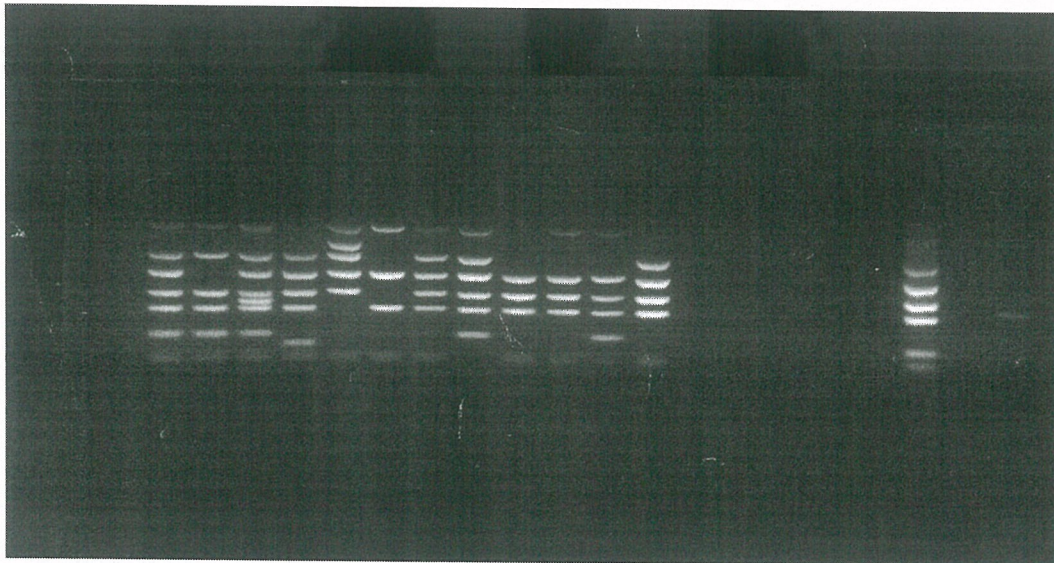
2 sikl 94° -30 saniyə

58° – 1dəq.30 s.

72° – 3 dəq. 25 dəfə

3 sikl 72° -10 dəq. 1 dəfə

Cihazdan çıxdıqdan sonra eyni ilə gel hazırladıq və gelə yürütdük, Qoyduq elektroforezə 100 V 30 dəq. Vaxt bitdikdən sonra ehtiyatla geli götürüb və xüsusi qaranlıq otaqda UV ultrabənövşəyi şua altında nəticələrə baxdıq.



Neticələri təhlil etdik. Bu metodu bir neçə dəfə təkrar etdik hazır alınmış kommersiya kitləri və ayrı ayrı alınmış reagentlərdən.

Ordakı əməkdaşlar hər bir incəliyi çox böyük həvəs və diqqətlə anlatmağa çalışırdılar. Vaxt tapıb başqa daha asan üsulla brusellanı müəyyən etmək metodikalarında anlatdılar.

Mən çox şadam ki bu müsabiqəyə qatıldım və öyrəndiyim müasir metodları çalışdığım laboratoriyada tətbiq edəcəm.

Bir daha Elmin İnkişaf Fondunun İcraçı direktoru Elçin Babayevə dərin minnətdarlığımı bildirirəm ki, bu cür müsabiqələr təşkil edir və biz gənclər bu müsabiqələrdə iştirak edirik.

Əməyi və əziyyəti keçən hər bir kəsə çox təşəkkür edirəm.

Layihə rəhbəri: Hacıyeva Aytən Tofiq qızı

