

EGE ÜNİVERSİTESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALTIN NANOPARTİKÜL MODİFİYE ELEKTROTLARIN
TASARIMI VE ELEKTROKİMYASAL DNA HİBRİDİZASYON
TAYİNİNE YÖNELİK UYGULAMALARI

Merve MUTİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN

İkinci Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mührican MUTİ ERDEM

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu:
Sunuş Tarihi: 10.02.2015

Bornova-İZMİR
2015

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALTIN NANOPARTİKÜL MODİFİYE
ELEKTROTLARIN TASARIMI VE
ELEKTROKİMYASAL DNA HİBRİDİZASYON
TAYİNİNE YÖNELİK UYGULAMALARI**

Merve MUTİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN

İkinci Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mihrican MUTİ ERDEM

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu:

Sunuş Tarihi: 10.02.2015

Bornova-İZMİR

2015

Merve MUTİ tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak sunulan “**Altın Nanopartikül Modifiye Elektrotların Tasarımı ve Elektrokimyasal DNA Hibridizasyon Tayinine Yönelik Uygulamaları**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 10.02.2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN
Raportör Üye	: Prof. Dr. Sevil İRİŞLİ
Üye	: Prof. Dr. Fatma YURT LAMBRECHT

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / Doktora Tezi olarak sunduğum“Altın Nanopartikül Modifiye Elektrotların Tasarımı ve Elektrokimyasal DNA Hibridizasyon Tayinine Yönelik Uygulamaları” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

10 / 02 / 2015

Merve MUTİ

ÖZET**ALTIN NANOPARTİKÜL MODİFİYE ELEKTROTLARIN
TASARIMI VE ELEKTROKİMYASAL DNA HİBRİDİZASYON
TAYİNİNE YÖNELİK UYGULAMALARI**

MUTİ, Merve

Yüksek Lisans Tezi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. K. Arzum ERDEM GÜRSAN

İkinci Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Mihrican MUTİ ERDEM

Ocak 2015, 66 sayfa

Nükleik asit analizine dayanan elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin tasarımında, nanoteknolojinin gelişmesiyle birlikte nanomalzemelerin kullanımı artmıştır ve bu sayede daha duyarlı ve seçimli biyosensör platformları geliştirilmiştir. Tez çalışmamızın ilk bölümünde tek kullanımlık kalem grafit elektrot yüzeyini modifiye etmek için gerekli deneysel koşullar optimize edilmiştir. Kalem grafit elektrot yüzeyi elektroaktif 2-Amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole (AMT) ile modifiye edilmiş ve sonrasında, AMT'nin yapısında bulunan tiyol grupları üzerinden altın nanopartiküllerin (AuNP) elektrot yüzeyine bağlanması hedeflenmiştir. Hazırlanan sensörlerin mikroskopik yüzey karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılmıştır. AuNP ile modifiye edilmiş elektrot yüzeyine Hepatit B virüsünü (HBV) temsil eden DNA prob dizisi immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın ikinci bölümü, yüzeyine prob immobilize edilmiş AuNP modifiye elektrot ile hibridizasyon çalışmalarını ve impedimetrik hibridizasyon tayini içermektedir. Hazırlanan elektrodun seçimliliği, hedef DNA dizisi, tek bazı hedeften farklı DNA dizisi (MM), rastgele DNA dizisi (NC) kullanılarak test edilmiş ve elektrodun tayin sınırı belirlenmiştir. Tüm deneysel çalışmalarda elektrokimyasal empedans spektrometri (EIS) tekniği kullanılmış ve transfer edilen yüke karşı oluşan direnç (Rct) değerindeki değişim üzerinden hibridizasyon tayini gerçekleştirilmiştir.

Anahtar sözcükler: Elektrokimyasal DNA biyosensörleri, kalem grafit elektrot, DNA hibridizasyonu, AMT, altın nanopartiküller, elektrokimyasal empedans spektroskopisi.

ABSTRACT**DESIGN OF GOLD NANOPARTICLE MODIFIED ELECTRODES
AND THEIR APPLICATIONS FOR THE DETECTION OF
ELECTROCHEMICAL DNA HYBRIDIZATION**

MUTİ, Merve

MSc, Department of Materials Science and Engineering

Supervisor: Prof. Dr. K. Arzum ERDEM GÜRSAN

Cosupervisor: Yrd. Doç. Dr. Mıhrıcan MUTİ ERDEM

January 2015, 66 pages

With the development of nanotechnology there is an increased usage of nanomaterials in the design of electrochemical DNA biosensors based on nucleic acids and thus more sensitive and selective biosensor platforms were developed. In the first part of our study, the experimental conditions to modify disposable pencil graphite electrode surfaces were optimized. The electrode surface was firstly modified with 2-Amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole (AMT). By this way it was aimed to bind gold nanoparticles (AuNPs) to the electrode surface since AMT contains thiol groups. The microscopic characterization of the electrodes were performed by using scanning electron microscopy (SEM). Probe sequence related to Hepatitis B virus (HBV) was immobilized onto the AuNPs modified electrode surface. In the second part of our study the detection of hybridization studies by using probe immobilized AuNPs modified electrodes was performed. The selectivity of the electrode was tested by using target DNA, one base mismatch (MM) and non complementary (NC) DNA sequences and detection limit was determined. The electrochemical impedance spectroscopy (EIS) technique was applied for all experiment in our study and the detection of hybridization was investigated according to the changes at the values of the charge transfer resistances (R_{ct}).

Keywords: Electrochemical DNA biosensors, pencil graphite electrode, DNA hybridization, AMT (5-Amino-1,3,4-thiadiazol-2-thiol) gold nanoparticles, electrochemical impedance spectroscopy.

TEŞEKKÜR

Aralık 2012-Ağustos 2013 tarihleri arasında kendisinden ve ekibindeki öğrencilerinden “*Elektrokimyasal DNA biyosensörleri*” konusunda teorik ve uygulamaya yönelik yeni bilgiler öğrenme fırsatını tanıyan, yüksek lisans eğitimim ve tezime yönelik çalışmalarım süresince değerli katkılar sağlayan danışmanım Sayın *Prof. Dr. K. Arzum ERDEM GÜRSAN*’a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca bana her türlü desteği sağlayan, yaptığım her işte arkamda durup bana her koşulda güvenen önce ablam, sonra ikinci danışmanım *Yrd. Doç. Dr. Mihrican MUTİ ERDEM*’e teşekkür ederim.

Nisan 2013-Ağustos 2013 tarihlerinde bursiyeri olduğum TÜBİTAK-3501 Kariyer projesi kapsamında, Proje Yürütücüsü Doç. Dr. Filiz KURALAY’a ve Ekim 2014 tarihinden bugüne kadar bursiyeri olduğum TÜBİTAK-3001 Araştırma projesi kapsamında Proje Yürütücüsü Yrd. Doç. Dr. Mihrican MUTİ ERDEM’e ve her iki proje desteği kapsamında TÜBİTAK kurumuna maddi ve manevi desteği için teşekkür ederim.

Engin bilgi ve tecrübeleriyle bilimsel veya herhangi bir konuda bizlere en doğru yolu göstermekten hiç kaçınmayan Sayın *Prof. Dr. A. Ersin KARAGÖZLER*’e,

Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, beni hep olumlu yönde motive eden ve candan dostlukları için sevgili arkadaşlarım *Kübra GENÇDAĞ* ve *Merve NACAK*’a,

Hayatıma girdiği andan itibaren, neleri başarabileceğim konusunda bana benden daha çok güvenen ve desteğini hiçbir zaman esirgemedi hep yanımda olan *Mert İSTEK*’e,

Tüm hayatım boyunca beni gözlerinden sakınan her zaman benimle gurur duyan ve emeklerinin karşılığını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim kalabalık aileme,

teşekkürlerimi sunarım.

Merve MUTİ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xviii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xx
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Elektrokimya	4
2.1.1. Elektrokimyasal tabakalar	4
2.1.2. Faradayik ve faradayik olmayan akımlar	5
2.1.3. Elektrokimyasal bir olayda kütle aktarım yolları	6
2.1.4. Voltammetri ve esasları	7
2. 1. 5. Voltammetrik teknikler	12
2. 2. Biyosensörler	17
2. 2. 1. Biyosensör çeşitleri	17
2. 2. 2. İdeal bir biyosensörde olması gereken özellikler	18

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

2. 2. 3. Elektrokimyasal DNA biyosensörleri	19
2. 2. 4. Nanoteknoloji	21
2.2.5. Altın nanopartiküllere dayalı elektrokimyasal biyosensörler	22
2.2.6. Taramalı elektron mikroskopi tekniği (SEM)	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Kullanılan Cihazlar	26
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	26
3.3. Çözeltilerin Hazırlanması	27
3.4. Elektrotların Hazırlanması	27
3.3.1. AMT çözeltisinin hazırlanması	27
3.3.2. AuNP çözeltilerinin hazırlanması	27
3.3.3. 0.5 M Asetat tampon çözeltisinin hazırlanması (ABS)	27
3.3.4. 0.05 M Fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması (PBS)	27
3.3.5. Tris EDTA tampon çözeltisinin hazırlanması	28
3.3.6. Redoks prob çözeltisinin hazırlanması	28
3.3.7. DNA Oligonükleotitler	28
3.3.8. Oligonükleotid çözeltilerinin hazırlanması	28

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.4. Elektrot Yüzeylerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Karakterizasyonu	29
3.5. Elektrotların Hazırlanması	29
3.5.1. AMT ile modifiye edilmiş PGE'lerin hazırlanması	30
3.5.2. AMT-PGE yüzeyine AuNP modifikasyonu	31
3.5.3. Elektrot yüzeyine tiyol işaretli DNA prob tutturulması	31
3.5.4. AMT-AuNP-SH HBV DNA Prob PGE yüzeyine hedef dizi, rastgele dizi ve tek bazı hedeften farklı dizinin tutturulması.....	31
3.6. Empedans Ölçümleri	31
4. BULGULAR	32
4.1.Kalem Grafit Elektrotların Yüzeylerinin Modifikasyonunun Karakterizasyonuna İlişkin Bulgular	32
4.1.1. Mikroskobik karakterizasyona yönelik bulgular	32
4.1.2. Elektrot yüzeyinin aktivasyonu ve AMT ile yüzey modifikasyonuna yönelik bulgular	34
4.1.3. AuNP ile modifiye AMT-PGE hazırlanmasında AuNP konsantrasyonunun optimizasyonuna yönelik bulgular	34
4.2. AMT-AuNP-PGE Yüzeyine Prob (SH-HBV Prob) İmmobilizasyonuna İlişkin Bulgular	37

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.2.1. SH-HBV probun yalın-PGE, AMT-PGE, AuNP-PGE ve AMT-AuNP-PGE yüzeylerine bağlanma performanslarının karşılaştırılmasına yönelik bulgular	37
4.2.2.AMT-AuNP-PGE yüzeyine tutturulacak optimum SH-HBV Prob konsantrasyonunun belirlenmesine yönelik bulgular	37
4.3. AMT-AuNP-SH HBV Prob Modifiye Edilmiş Elektrot Yüzeyinde Hibridizasyon Tayinine Yönelik Bulgular	38
4.3.1. Hedef DNA hibridizasyon süresi çalışması	38
4.3.2. Hedef DNA konsantrasyon çalışmasına yönelik bulgular	39
4.3.3. Hibridizasyonda seçimlilik çalışmaları	41
5. TARTIŞMA	42
5.1.Kalem Grafit Elektrotların Yüzeylerinin Modifikasyonunun Karakterizasyonuna İlişkin Tartışma	42
5.1.1. Mikroskobik karakterizasyona yönelik tartışma	42
5.1.2. Elektrot yüzeyinin aktivasyonu ve AMT ile yüzey modifikasyonuna yönelik tartışma	42
5.1.3. AuNP ile modifiye AMT-PGE hazırlanmasında AuNP konsantrasyonunun optimizasyonuna yönelik tartışma	42
5.2. AMT-AuNP-PGE Yüzeyine Prob (SH-HBV Prob) İmmobilizasyonuna İlişkin Tartışma	44

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

5.2.1. SH-HBV probun yalın-PGE, AMT-PGE, AuNP-PGE ve AMT-AuNP-PGE yüzeylerine bağlanma performanslarının karşılaştırılmasına yönelik tartışma	44
5.2.2. AMT-AuNP-PGE yüzeyine tutturulacak optimum SH-HBV Prob konsantrasyonunun belirlenmesine yönelik tartışma	46
5.3. AMT-AuNP-SH HBV Prob Modifiye Edilmiş Elektrot Yüzeyinde Hibridizasyon Tayinine Yönelik Tartışma	46
5.3.1. Hedef DNA hibridizasyon süresi çalışmasına yönelik tartışma	46
5.3.2. Hedef DNA konsantrasyon çalışmasına yönelik tartışma	46
5.3.3. Hibridizasyonda seçicilik çalışmalarına yönelik tartışma	47
6. SONUÇ.....	48
KAYNAKLAR DİZİNİ	50
ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Elektrot yüzeyindeki tabakaların şematik olarak gösterilmesi	5
2.2. Voltammetride kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri	8
2. 3. Üçlü elektrot sistemi	8
2. 4. Voltammetrik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması	9
2. 5. Kalem grafit elektrot	11
2. 6. Dönüşümlü voltammetride potansiyelin zamana bağlı ardışık tarama döngüsü	13
2. 7. Tersinir bir elektrot tepkimesi için elde edilen akım-potansiyel eğrileri	14
2. 8. (a) Giderek artan bir doğru akım potansiyeline sabit genlikli pulsların uygulanması. Akım 1 ve 2 noktalarında ölçülmektedir. (b) Diferansiyel puls voltammetrisinde elde edilen I-E eğrisi	15
2. 9. Gerçek empedansa (Z') karşı zahiri empedans (Z'') ile oluşturulan Nyquist eğrisi. Θ , devrede sinusoidal karakterdeki potansiyel ile akım arasında oluşan faz açısıdır	16
2. 10. Biyosensörün yapısı	17
2. 11. DNA molekülünün yapısı	19
2. 12. DNA molekülünün çift sarmal yapısı	20
2. 13. Taramalı elektron mikroskopunun (SEM) şematik gösterimi	25
3.1. Elektrot modifikasyon aşamalarının şematik gösterimi.....	30
4. 1 (a) Pret PGE, (b) AMT PGE, (c) AMT-AuNP PGE' nin 10 μm ; (d) AMT-AuNP PGE'nin 100 μm çözünürlükte elde edilen SEM görüntüleri	34

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.2. AuNP konsantrasyon çalışması, A) ortamda DNA yokken, B) modifikasyon sonrası DNA immobilize edilmiş elektrotlarla ölçülen R_{ct} değerlerini gösteren Nyquist eğrileri ek şekil: Empedans değerlerine uyguneşdeğer devre modeli. R_s , çözelti direncini; Sabit faz elementi C_d , DNA/ elektrot ara yüzeyindeki ara yük kapasitansını; R_{ct} , DNA/elektrolit ara yüzeyindeki yük transfer direncini; W , Elektrot yüzeyindeki kütle transferinden kaynaklanan Warburg empedansını göstermektedir. C) Nyquist eğrilerinden hazırlanan histogram	36
4.3. Farklı elektrot yüzeylerine SH-HBV Prob immobilizasyonu sonrasında elektrotlardan elde edilen yanıtları gösteren histogram	37
4.4. Yüzeyine farklı derişimlerde SH-HBV Probe immobilize edilmiş elektrotlar ile elde edilmiş A) Nyquist eğrisi B) R_{ct} değerlerini gösteren histogram	38
4.5: Hedef DNA ile hibridizasyon süresi çalışmasına ait nyquist eğrileri.....	39
4.6: Hedef DNA konsantrasyon çalışmasına ait A) Nyquist eğrisi, B) Kalibrasyon grafiği, C) Histogram	40
4.7. Seçimlilik çalışmasına ait A) Nyquist eğrisi, B) histogram	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

2.1. Altın nanopartiküller ile modifiye edilmiş elektrokimyasal biyosensör çalışmaları. GCE: Camsı karbon elektrot, AuNP: Altın nanopartikül, BRCA-1: Göğüs kanseri geni, APBA: 3-aminofenilboronik asit, MPA: Merkaptopropiyonikasit, DOTAP: 1,2-dioleoyil trimetil amonyum propan, DOPE: 1,2-dioleoyil-sn-gliserol-3-fosfoetanolamin, Cyst: Sisteamin, PtE: Platin elektrot ITO: İndiyum kalay oksit, HIV-1: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü , MoS ₂ : Molibden disülfür, MB: Moleküler işaret, SPE: Perde baskılı elektrot	23
5.1. AuNP yüzeyine SH-HBV immobilizasyonundan sonra ölçülen Rct değerlerindeki % değişimler	43
5.2. Modifikasyon aşamalarından sonra elektrotların ölçülen Rct değerlerindeki % değişimler	45
5.3: Hedef DNA konsantrasyonuna karşılık gelen ortalama Rct değerleri.....	47
5.4: Seçimlilik çalışması sonucu ölçülen Rct değerleri	48

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
μg	mikrogram
mL	mililitre
μM	mikromolar
mM	milimolar
nM	nanomolar
ng	nanogram
pg	pikogram
pM	pikomolar
fg	femtogram
fM	femtomolar
<u>Kısaltmalar</u>	
PGE	Kalem grafit elektrot
CPE	Karbon pastası elektrot
SPE	Perde baskılı elektrot
GCE	Camsı karbon elektrot
AuNP	Altın nanopartikül
AMT	5-Amino-2-merkapto-1,3,4-tiadiazol
EIS	Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
HBV	Hepatit B virüsü
% RSD	Bağıl Standart Sapma

1. GİRİŞ

Kimyasal sensörler, kimyasal algılayıcı kısım ve fizikokimyasal dönüştürücü gibi iki ana bileşenden oluşan cihazlardır. Biyosensörler ise algılayıcı bölüm olarak biyolojik materyallerin kullanıldığı cihazlardır. Biyolojik materyaller; DNA, hücre, doku, enzim, antikor, hedef moleküller ile etkileşerek tanıma olayı gerçekleşir ve bu tanıma olayı çevirici sistem sayesinde elektriksel sinyal olarak okunur (Camman et al., 1991; Gronow et al., 1992; Sharma and Rogers, 1994). Biyosensörler sağladığı birçok avantaj sayesinde analitik kimyada önemli bir uygulama alanı olarak yerini almıştır. Biyosensörlerin geliştirilmesiyle son yıllarda nükleik asitlerin uygulanabilirliği de ilgi odağı olmuştur.

Nükleik asitlerin elektroaktif özellik gösterdiği 1960'lı yıllarda keşfedilmesiyle bu moleküllerin tayinine yönelik çalışmalar geliştirilmiş ve elektrokimyasal DNA biyosensörleri tasarlanmıştır (Palecek, 2002). Klasik metotlarla yapılan bazı DNA analizlerinde, toksik ve radyoaktif özellik gösteren boyar maddelerin kullanılması ayrıca, yüksek maliyetli ve zaman alıcı bir yöntem olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniğinin kullanılmasına alternatif olarak elektrokimyasal DNA biyosensörleri gün geçtikçe daha çok tercih edilen uygulama alanı olmuştur (Service, 1998). Elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin uygulama alanı, hem nitel hem de nicel DNA analizlerine olanak sağlaması nedeniyle son yıllarda oldukça artmıştır (Erdem vd., 2002, 2005, 2006b, 2007; Karadeniz vd., 2007a;2007b; Palecek and Fojta 2001; Wang et al., 2000, 2001, 2002, 2004, 2005).

Elektrokimyasal DNA biyosensörlerinde DNA'nın diğer moleküllerle etkileşimi ve DNA hasarı ve hibridizasyon tayini üzerinde yoğunlaşmaktadır. DNA'nın diğer moleküllerle etkileşimi daha çok ilaç, toksik ve kansorejen maddelerle etkileşimi olarak sınıflandırılabilir. Bu çalışmalarda elde edilen elektrokimyasal sinyaller ile DNA ile ilgili pek çok çalışma kolay, hızlı ve ucuz bir yöntemle yapılabilmekte, ayrıca seçiciliği, tekrarlanabilirliği ve duyarlılığı yüksek sonuçlar elde edilebilmektedir.

Elektrokimyasal DNA biyosensörlerinde elektrot yüzeyinin çeşitli malzemelerle modifikasyonu yaygın olarak yapılmaktadır. Modifikasyon, elektrot yüzey alanını büyütmek ve böylece daha az analizlenecek madde ile daha

okunabilir sinyaller elde etmek için yapıldığı gibi elektrot ile elektrolit arayüzeyinde gerçekleşen elektron transferini katalizlemek için yapılır. Bu amaçla elektron transferini katalizleyecek ve analizlenecek madde ile spesifik etkileşimleri nedeniyle daha az analizlenecek maddeyle tayine imkan verecek düşük tayin sınırına sahip biyosensörlerin hazırlanması yoluna gidilmiştir.

Literatürdeki elektrokimyasal DNA biyosensör çalışmalarında elektrot yüzeyinin nanomalzemelerle modifiye edildiği pek çok çalışma mevcuttur. Özellikle nanopartiküllerin elektrot modifikasyon malzemesi olarak kullanımına literatürde sıklıkla rastlanmaktadır. Nanopartikül olarak kadmiyum sülfür nanopartiküllerin (Wang et al., 2002), altın nanopartiküllerin (Özsöz vd., 2003; Rasheed et al., 2014; Yang et al., 2014; Liu et al., 2014; Bhuvana and Dharuman, 2014; Liu et al., 2013; Lee et al., 2013; Su et al., 2013; Gao et al., 2013; Bhalla et al., 2012; Hui et al., 2012; Li et al., 2012; Kong et al., 2013; Thiruppathiraja et al., 2011; Chen et al., 2014; Peng et al., 2014; Nowicka et al., 2014), gümüş nanopartiküllerin (Karadeniz vd., 2007), çinko nanopartiküllerin (Zhang et al., 2008, Yumak vd., 2011), platin nanopartiküllerin (Zhu et al., 2005), kalay oksit nanopartiküllerin (Muti vd., 2010) literatürde elektrot modifikasyonunda başarıyla kullanıldıkları görülmektedir. Ayrıca manyetik nanopartiküller (Erdem vd., 2005, 2006b, 2007; Hassena et al., 2008; Karadeniz vd., 2009; Salem et al., 2004; Wang et al., 2001a, 2002a, 2004a) ayrıca tek ve çok duvarlı karbon nanotüp modifiye elektrotlar biyosensör tasarımında sıklıkla kullanılmaktadır (Cai et al., 2003; Cheng et al., 2005; Chen et al., 2001; Çalışkan vd., 2009; Erdem vd., 2006a, 2009; Galandova et al., 2009; Goyal and Singh 2008; Guo et al., 2004; Hrapovic et al., 2004; Karadeniz vd., 2008; Li et al., 2005; Merkoçi et al., 2005; Ravindra et al., 2003; Zhang et al., 2008, 2010; Muti vd., 2012; Erdem vd., 2012).

Çalışmamızın konusu ve amaçları:

Çalışmamızın amacı, Hepatit B virüsünün tayini için yüksek duyarlılıkta, kararlı ve tekrarlanabilir biyosensörlerin nanomalzemelere dayalı tasarımlarının gerçekleştirilmesidir. Elektrokimyasal DNA biyosensör tasarımı için elektrot yüzeyi önce elektroaktif bir malzeme ile modifiye edilmiş ve sonrasında AuNP bu yüzeye immobilize edilmiştir. Bu amaçla elektrot yüzeyi 5-Amino-2-Merkapto-1,3,4-Tiadiazol (AMT) ile modifiye edilmiştir. AMT, yapısında hem tiyol hem de

amino grubu içeren elektroaktif bir moleküldür. AMT'nin yapısında bulunan bu iki fonksiyonel gruptan biri olan amino grubu AMT'nin elektrot yüzeyine daha kararlı bir şekilde tutunmasını sağlarken, tiyol grubu, altın ile spesifik etkileşimleri nedeniyle bir sonraki basamakta daha yüksek miktar ve kararlılıkta DNA'nın elektrot yüzeyine tutunmasına olanak sağlamıştır.

Çalışmamızın ilk bölümünde elektrot yüzeyini AMT ile modifiye etmek için gerekli deneysel koşullar optimize edilmiş ve modifikasyon işlemi literatürde belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir (Muti vd., 2012). Yüzeyi AMT ile modifiye edilmiş elektroda optimum AuNP immobilizasyonu için AuNP konsantrasyon ve immobilizasyon süresi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu aşamaya kadar modifiye edilen elektrotlar Taramalı Elektron Mikroskobu ile (SEM) karakterize edilmiştir. Elektrot yüzeyinin modifikasyonu ile ilgili çalışmaların ardından modifiye yüzeye immobilize edilecek optimum prob DNA konsantrasyon çalışmaları yapılmıştır.

Çalışmamızın ikinci bölümü, yüzeyine prob immobilize edilmiş AuNP/AMT-PGE ile HBV DNA hibridizasyon tayinine yönelik çalışmalarını içermektedir. HBV DNA hibridizasyon tayinine yönelik çalışmalarda Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi tekniği kullanılmış ve transfer edilen yüke karşı oluşan direnç (R_{ct}) değerindeki değişimler ölçülerek tayin gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda hedef konsantrasyon çalışması yapılmış elektrodun tayin sınırı belirlenmiştir. Geliştirilen biyosensörün seçimliliği test edilmiş ve tek bazı hedef DNA dizisinden farklı mutasyonlu dizi (MM) ve tamamlayıcı olmayan rastgele DNA dizisi (NC) varlığında seçimlilik çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu dünyada ana sağlık problemlerinden biridir ve özellikle kişinin diyet ve sağlık koşulları kontrollü değilse, kronik hepatit, siroz ve primer karaciğer kanserine yol açabilir. Günümüzde Hepatit B virüsü tayini için kullanılan klinik tanı metodları biyosensörler ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemidir. PCR yöntemi pahalı kit ve toksik madde kullanımı gerektirmektedir. Biyosensörlerin ise basit, kullanımı kolay, hızlı ve ucuz tayine olanak sağlaması ile Hepatit B virüsü tayini için son yıllarda tercih edilen aygıtlar olmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektrokimya

Yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarına dayanan elektrokimya bilim dalı, madde ile elektrik enerjisi arasında etkileşmeyi, bu etkileşmenin sonucunda oluşan kimyasal enerjinin fiziksel enerjiye dönüşümü gibi kimyasal ve fiziksel değişimleri inceler (Skoog et al., 1996). Elektrokimyasal tepkimeler, elektrokimyasal hücre adı verilen ortamda gerçekleşir.

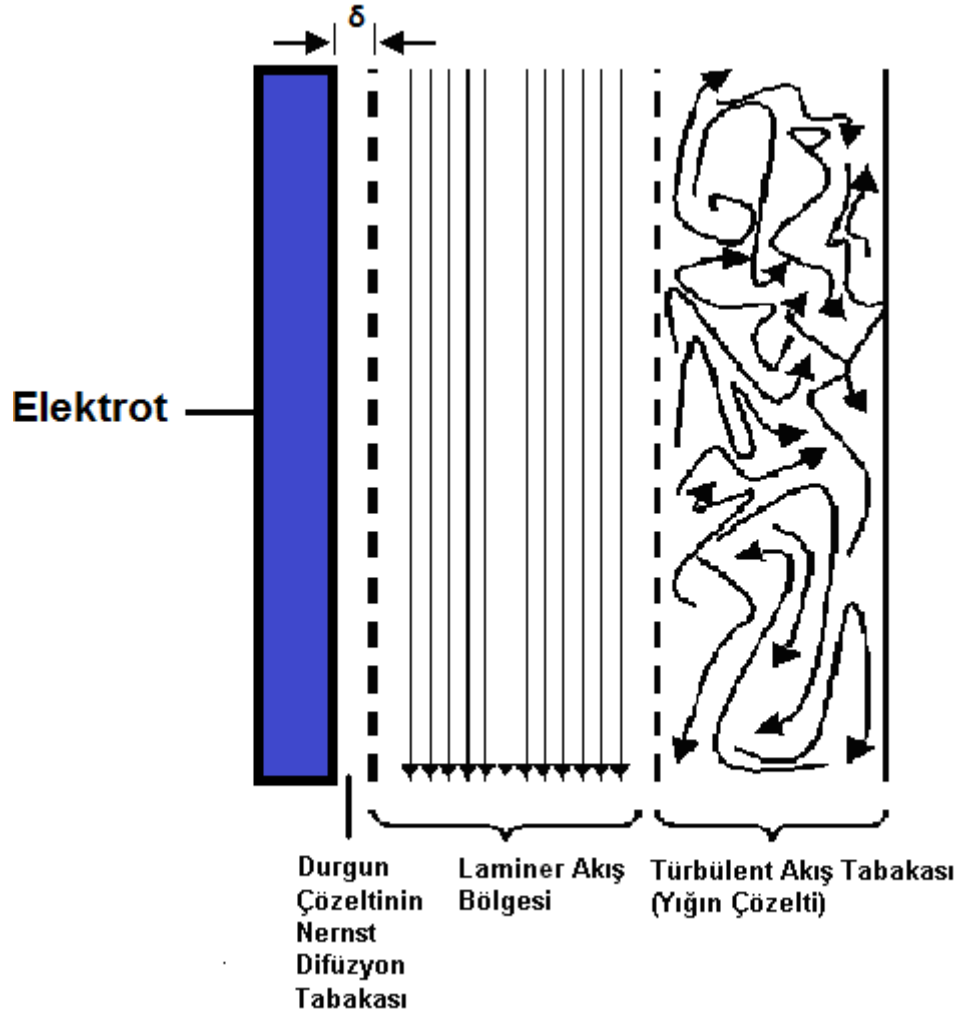
2.1.1. Elektrokimyasal tabakalar

Elektrokimyasal ölçüm yapılırken, elektrot yüzeyi ile analizlenecek madde çözeltisi arasında heterojen tabakalar oluşmaktadır. Bu duruma, elektrodun döndürüldüğü ya da elektrot üzerinden bir çözelti aktarıldığı koşulda elektrodun kendisine bitişik olan çözelti tabakasındaki bir türe elektron verebilmesi ya da o tabakadan elektron alabilmesi neden olmuştur. Karıştırılan bir sistemdeki heterojen tabakalar bileşimi Şekil 2. 1’de görülmektedir.

Türbülent akış: Elektrottan uzak çözelti yığnında gözlenir; sıvı hareketinin düzenli bir akış modeli yoktur.

Laminer akış: Yüzeye yaklaşıldığında laminer akışa geçiş olur; sıvı tabakaları elektrot yüzeyine paralel bir yönde birbiri üzerine kayarlar.

Nernst difüzyon tabakası: Elektrot yüzeyinden δ cm uzakta laminer akımının hızı, sıvı ile elektrot arasındaki sürtünmeden dolayı sıfıra yaklaşır ve bunun sonucunda elektrot çevresinde ince, durgun bir çözelti tabakası oluşur. Genellikle bu çözelti tabakası, 10^{-2} – 10^{-3} cm kalınlığında olabilir (Skoog et al., 1998).



Şekil 2. 1 Elektrot yüzeyindeki tabakaların şematik olarak gösterilmesi

2.1.2. Faradaik ve faradaik olmayan akımlar

Elektrot sistemine potansiyel uygulandığında iki tür akım oluşur. Bu akımlardan biri, elektrot yüzeyinde gerçekleşen tepkime sonucu oluşan akıma **faradaik akım** denir. Elektrot ile elektrolit ara yüzeyinde yük geçişi olmasının sonunda indirgenme-yükseltgenme tepkimeleri gerçekleşir. Tepkimeler sonucu açığa çıkan ürün miktarı ile çözelti içerisinde geçen akım doğru orantılı olup Faraday Yasası'na uygunluk sağlanmış olmaktadır.

Bir elektrot çözeltiye daldırıldığında, doymamış yüzey kuvvetleri nedeniyle çözeltideki iyon ve polar çözünen molekülleri elektrot yüzeyi tarafından adsorplanır ya da az hidratlaşan iyonlar, çok hidratlaşan iyonlardan daha çok

adsorplanır şeklinde ifade edilebilir. Bu durumda elektrot negatif yükle yüklendiği varsayılır ve zıt yüklü iyonlar da karşılırlarına dizilmesiyle bir katman oluşur. Oluşan bu katmana **elektiriksel çift katman** denir. Elektiriksel çift katman yükleri depo ederek kondansatör gibi davranır ve ortamda indirgenecek ve yükseltgenecek türlerin olmamasına rağmen sistemde bir akım oluşumuna sebep olur. Tamamen sistemden kaynaklı bu akıma **kapasitif (sığasal) akım** denir.

$$I_{devre} = I_f + I_c$$

Kapasitif akım ve faradaik akım toplamı devreden geçen akımı vermektedir. Bu yüzden kapasitif akım ne kadar azaltılabilirse duyarlılık da artmış olur. Analit derişimi yüksek olduğu koşullarda kapasitif akım ihmal edilebilir ancak analit derişimi seyreltik ise kapasitif akım da dikkate alınmalıdır. (Skoog et al., 1998; Tural vd.,2006)

2.1.3. Elektrokimyasal bir olayda kütle aktarım yolları (Tural vd., 2006)

Kütle aktarımı, çözelti içinde bulunan bir maddenin bir yerden başka bir yere hareketi olarak tanımlanır. Bir elektrolitteki herhangi bir taneciğin bir yerden başka bir yere taşınabilmesi için, o taneciğe bir kuvvetin etki etmesi gerekir. Bu kuvvet kimyasal, elektiriksel ya da mekanik bir kuvvet olabilir. Kütle aktarımı üç farklı şekilde gerçekleşir.

Elektiriksel göç (Migrasyon) : Elektiriksel kuvvetlerin etkili olduğu taşınma şeklidir. Elektiriksel alan altında iyonlar, bu alandan kaynaklanan kuvvet etkisiyle hareket ederler. Bu hareket, dışarıdan elektiriksel alan uygulandığında oluştuğu gibi, çözeltide herhangi bir nedenle yük dengliğı bozulduğunda da oluşabilir. Elektrotlara dışarıdan bir gerilim uygulandığında, bu kuvvet anyonları anoda, katyonları da katoda doğru sürüklenmesiyle elektiriksel göç (migrasyon) gerçekleşmiş olur.

Karıştırma (Konveksiyon): Karıştırma ve elektrodun dönmesi gibi mekanik kuvvetlerin neden olduğu kütle aktarım yoludur.

Difüzyon: Derişim farkından kaynaklanan kimyasal kuvvetin oluşturduğu kütle aktarım yoludur.

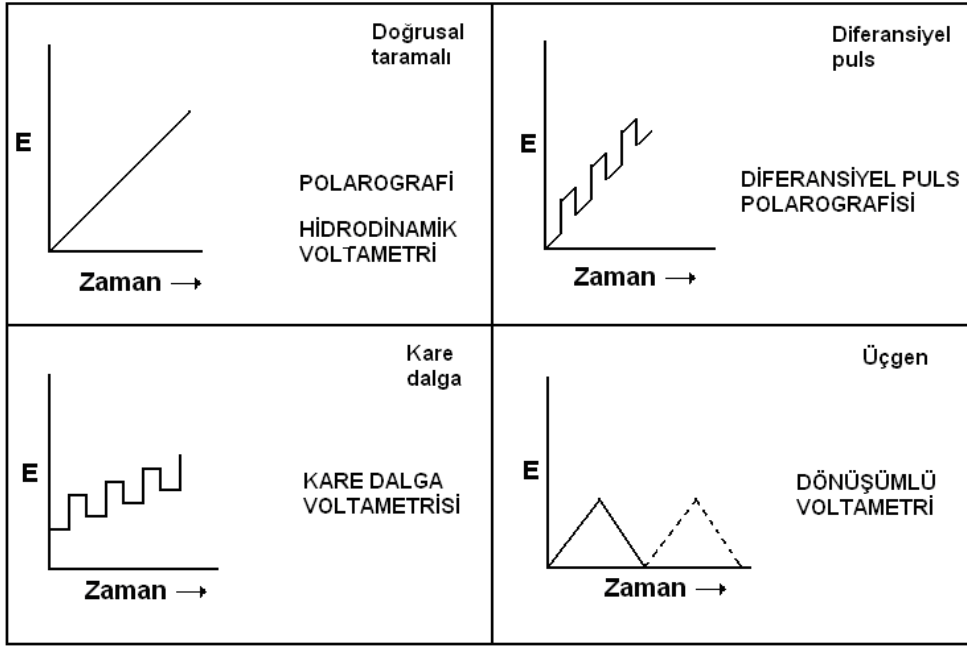
2.1.4. Voltammetri ve esasları (Skoog vd., 1998)

Voltammetri, Volt-am(pero)-metri kelimesinden türetilmiş olup, bir indikatör veya çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden faydalanılarak analit hakkında bilgi edinilen elektroanalitik yöntemlerin genel adıdır. Uygulanan gerilimin ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine de **voltamogram** denir. Genel olarak voltammetride kullanılan çalışma elektrotları, polarizasyonu arttırmak için, yüzey alanları çoğunlukla birkaç milimetre kare ve bazı uygulamalarda ise birkaç mikrometre kare ve daha küçük olan mikroelettrotlardır.

Voltammetrinin tarihsel gelişimi 1920' lerin başında Çekoslovak kimyacı Jarostav Heyrovsky tarafından polarografi tekniğinin geliştirilmesine dayanmaktadır. Voltammetrinin hala önemli bir kolu olan polarografinin diğer voltammetrik tekniklerden en büyük farkı, çalışma elektrodu olarak bir damlayan civa elektrodunun (DCE) kullanılmasıdır. 1960'ların ortalarında ise klasik voltammetrik yöntemlerde, yöntemin duyarlılığı ve seçiciliğini önemli ölçüde arttıran birçok ana değişiklik geliştirildi. Yaklaşık aynı zamanlarda, düşük maliyetli yükselticilerin ortaya çıkması, bu değişikliklerin çoğu ile ilişkili nispeten daha ucuz aletlerin yapılmasını ve onların bütün kimyacıların kullanımına sunulmasını mümkün kıldı. Bunun sonucunda, özellikle farmasötik, çevre ve biyolojik açıdan önemli türlerin tayini için voltammetrik yöntemlerin uygulanmasıyla ilgili çalışmalara ilgi artmıştır.

2.1.4.1. Voltammetride kullanılan uyarma sinyalleri

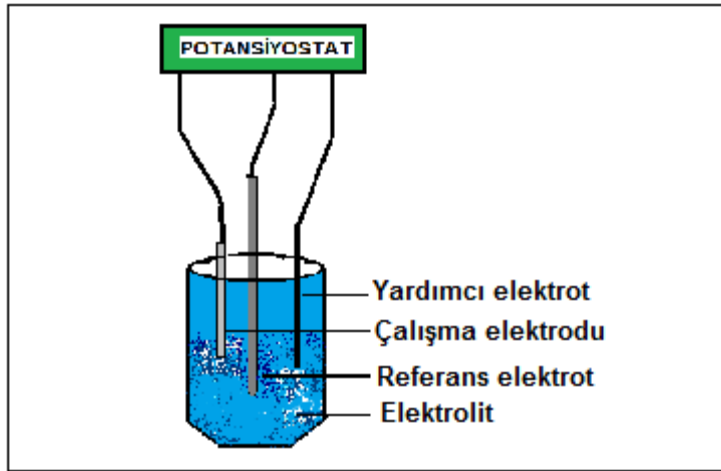
Voltammetride, çalışma elektrodunun voltajı, sistematik olarak değiştirilirken, akım ölçülür. Elektroda, zamana göre değişimi çok farklı voltajlar uygulanabilir ve voltaj - zaman fonksiyonlarına **uyarma sinyali** denir (Skoog et al., 1998). Bunlar; doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen dalgadır (Bkz. Şekil 2. 2).



Şekil 2. 2. Voltammetride kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri.

2.1.4.2. Voltammetrik cihazlar

Voltammetrinin çalışma prensibi; elektrokimyasal hücrede, polarize olabilen bir çalışma (indikatör) elektrodu ile karşılaştırma (referans) elektrodu arasında değeri zamanla değiştirilen potansiyel uygulanması sonucu ortaya çıkan akımın, üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile yardımcı (karşıt) elektrot, iki elektrotlu hücrelerde ise çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasından ölçülmesi ilkesine dayanır (Yıldız ve Genç, 1993) (Bkz. Şekil 2.3).



Şekil 2. 3. Üçlü elektrot sistemi.

2.1.4.3. Voltammetride Kullanılan Çalışma Elektrotları

Voltammetride kullanılan çalışma elektrotlarının kimyasal ve elektrokimyasal özellikleri önemli olduğundan sınırlı sayıda polarlanabilen çalışma elektrodu vardır. Bu elektrotlar farklı boyutlarda ve farklı şekillerde olmanın yanında, platin ya da altın gibi inert metal, karbon, pirolitik grafit ya da camsı karbon, kalay oksit ya da indiyum oksit gibi yarı-iletken veya bir civa filmi kaplanmış bir metal olabilirler.

Çalışma elektrotlarının herbirinin potansiyel çalışma aralıklarının farklı olmasının yanında bu aralık ayrıca çözücüye, kullanılan elektrolit türüne, ve pH'a bağlıdır. Pozitif potansiyel sınırları genellikle moleküler oksijen verecek şekilde, suyun yükseltgenmesi sonunda oluşan büyük akımlarla belirlenir. Negatif potansiyel sınırları yine suyun indirgenmesi sonunda oluşan hidrojen ile belirlenir (Tural vd., 2006).



Şekil 2. 4. Voltammetrik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması (Tural vd., 2006).

Karbon Elektrotlar

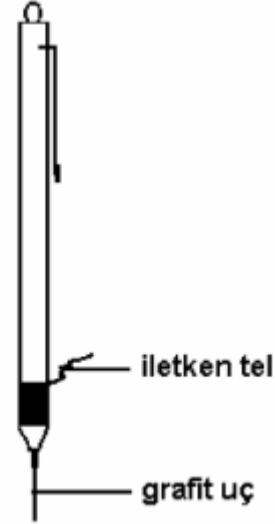
Karbon, geniş bir anodik potansiyel aralığına, düşük elektriksel dirence, düşük artık akıma, tekrarlanabilir yüzey yapısına ve düşük maliyete sahip olması gibi pek çok olumlu özellikleri nedeniyle elektrokimyasal analizlerde sıklıkla kullanılan ideal bir elektrot malzemesidir (Tural vd., 2006).

Karbon elektrodun bir dezavantajı yüksek yüzey aktivitesine sahip olmasından dolayı organik bileşikler tarafından kolayca kirletilebilmesidir. Hidrojen, hidroksil ve karboksil grupları ve hatta kinonlar ile karbon yüzeyinde bağlar oluşabilmektedir. Fakat bu fonksiyonel grupların varlığı karbon yüzeyine birçok değişik madde tutturulmasını sağlayabilir.

Elektrokimsayal uygulamalarda; karbon pastası elektrodu, camsı karbon elektrot, perde baskılı karbon (grafit) elektrot, karbon lif (fiber) elektrot ve kalem grafit elektrot gibi değişik türleri kullanılmaktadır.

Kalem Grafit Elektrot (PGE)

Kalem grafit elektrodun düşük tayin sınırına olanak sağlaması, diğer çalışma elektrotlarına kıyasla tekrarlanabilirliğinin yüksek olması, maliyetinin düşük ve tek kullanımlık olması sebebiyle yakın geçmişte özellikle biyosensör uygulamalarında geniş bir kullanım alanı bulmuştur (Ensafi et al., 2014, 2015; Aziz and Kawde, 2013; Zhu et al., 2014; Kawde and Aziz et al., 2014; Hür ve Arslan, 2014; Ekşin ve Erdem, 2014; Erdem vd., 2012, 2013, 2014).



Şekil 2. 5. Kalem grafit elektrot

2.1.4.4. Voltammetride kullanılan referans elektrotlar

Gerek potansiyometri gerek voltammetride kullanılan elektrotlardan biri, potansiyeli sabit ve çözelti bileşiminden etkilenmeyen bir elektrot olmak durumundadır. Bu tür elektrotlara referans elektrot denir. Bunların yarı elektrot tepkimeleri tersinirdir. Deney sırasında elektrot küçük bir akıma maruz kalsa bile potansiyeli ilk değerine döner.

Bu özellikleri bütünüyle sağlayan ideal bir referans olmamakla birlikte elektroanalitik kimyada en yaygın kullanılan elektrotlar kalomel ve Ag/AgCl elektrotlardır (Skoog et al., 1998)

Kalomel elektrot:

Ticari olarak temin edilebilmekle birlikte laboratuvarında kolaylıkla yapılabilen bir elektrot türüdür. Civa (I) klorürle temasta olan civadan oluşur ve ayrıca derişimi bilinen potasyum klorür içerir. KCl derişimi genellikle doygun derişimdir. Bu haliyle elektrot doygun kalomel elektrot olarak isimlendirilir.

Doygun kalomel elektrodun sıcaklık sabiti, KCl derişimi daha düşük (genellikle 0.1 M veya 3.5 M) olan kalomel elektrotlara kıyasla daha yüksektir.

Yani, sıcaklık değişmesiyle bu elektrodun potansiyeli diğer elektrotlarla karşılaştırıldığında daha az etkilenir.

Doygun kalomel elektrodun 25 °C Standart Hidrojen Elektrodu' na (SHE) göre potansiyeli + 0.244 V'dur.

Gümüş / Gümüş klorür elektrot:

Günümüzde genellikle en çok tercih edilen referans elektrot çeşididir. Gümüş telin gümüş klorür ile kaplanarak doygun KCl çözeltisine daldırılmasıyla hazırlanır. Bu elektrodun 60 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda kullanılabilmesi onu diğer elektrotlara göre daha avantajlı kılmıştır.

Doygun KCl varlığında SHE' na göre potansiyeli +0.222 V'dur.

2.1.3.5. Yardımcı Elektrot

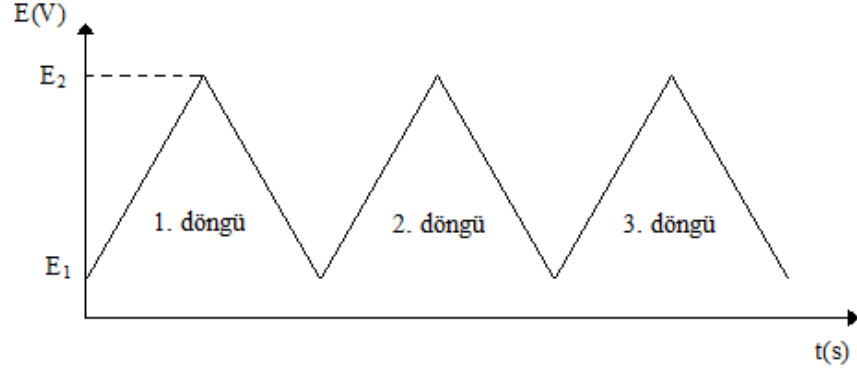
İkili elektrot sistemlerinde, potansiyeli sabit olan referans elektrot, üzerinden yüksek akım geçtiğinde polarlanır. Çözeltinin direncinin yüksek olduğu durumlarda ise bu direnci yenmesi için gerekli olan potansiyel, artış gösterir. Bu sebeplerin sonucunda çalışma elektrodunun polarizasyon potansiyeli yanlış ölçülebilir. İki elektrotlu sistemlerdeki bu sorun, sistemde üçüncü bir elektrodun yani yardımcı elektrodun gerekliliğini ortaya koymuştur. Sistemde akım, çalışma ve yardımcı elektrot üzerinden geçirilerek referans elektrodunun polarlanması önlenirken çalışma elektrodunun potansiyeli de sıfır akım altında okunmuş olur. Yardımcı elektrot olarak soy metal elektrotlar kullanılmalıdır. Pt, günümüzde yardımcı elektrot olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Tural vd., 2006).

2.1.5. Voltammetrik teknikler

2.1.5.1. Dönüşümlü voltammetri (Skoog vd., 1996, 1998; Yıldız ve Genç, 1993)

Bu voltammetri tekniğinde, potansiyel tarama işlemi döngüseldir. Potansiyel E_1 değerinden E_2 değerine belli bir hızla tarandıktan sonra, taramanın yönü ters çevrilerek çoğunlukla aynı hızla E_1 değerine ulaşılır. Dönüşümlü voltammetride,

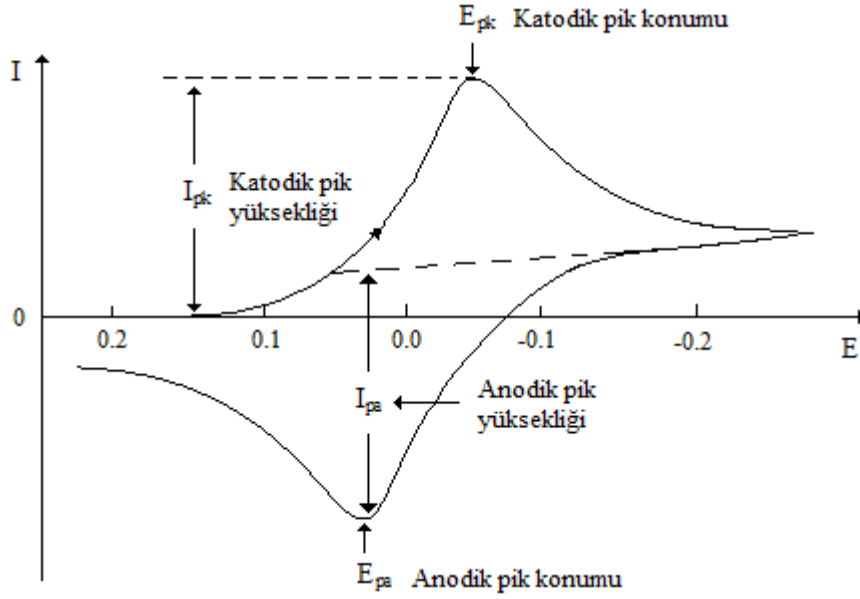
üçlü elektrot sistemiyle karıştırılmayan çözelti ortamıyla çalışılır. Döngüsel potansiyel tarama işlemi; elektrokimyasal tepkimeyle oluşan ürünün, ters döngüyle elektrokimyasal davranışını izleme olanağı sağlar. Tarama tek bir döngü veya birden fazla döngüyle yapılabilir.



Şekil 2. 6. Dönüşümlü voltammetride potansiyelin zamana bağlı ardışık tarama döngüsü

Dönüşümlü voltammetride, başlangıç potansiyeli E_1 elektrot tepkimesinin daha başlamadığı bir potansiyel olabileceği gibi, herhangi bir potansiyel de olabilir. Bitirme potansiyeli E_1 değerinden farklı bir E_3 potansiyeli olabilir (Nişli vd., 2012).

Dönüşümlü voltammogramlar bir elektrokimyasal tepkimenin hangi potansiyelde ve kaç adımda indirgenip yükseltgendiği, elektrokimyasal açıdan tersinir olup olmadığı, elektrot tepkimesinin bir kimyasal tepkime ile beraber gidip gitmediği, indirgenme ya da yükseltgenme ürünlerinin kararlılığı, elektrot tepkimesinde rol alan maddelerin yüzey karakterizasyonu hakkında bilgi edinmemize olanak sağlar.



Şekil 2. 7. Tersinir bir elektrot tepkimesi için elde edilen akım-potansiyel eğrileri.

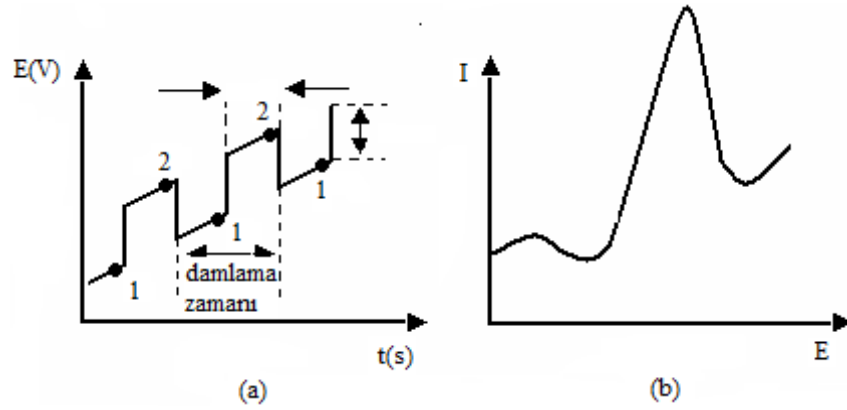
2.1.5.2. Diferansiyel Puls Voltammetrisi

Diferansiyel puls tekniği elektroaktif türlerin iz miktarlarının tayininde geniş bir alanda kullanılmaktadır (Gholivand et al., 2014; Hosseini et al., 2011; Milczarek and Ciszewski, 2004; Talemi and Mashhadizadeh, 2015; Yang et al., 2014).

Normal puls voltammetrisinde pulsun sonunda saptanan akım, az da olsa kapasitif bileşen içerir. Bu istenmeyen durumu önlemek, kapasitif akımın ölçülen akımdaki payını daha da azaltmak ve bunun sonucunda seçiciliği artırmak için pulsun başında ve sonundaki akımları ölçüp, farklarını alma yoluna gidilmiştir. Bu teknikle çalışan tekniğe **diferansiyel puls voltammetrisi** adı verilir. Giderek artan bir doğru akım potansiyeline sabit genlikli pulsların uygulanması ve diferansiyel puls voltammetrisinde elde edilen akım-potansiyel eğrisi Şekil 2.8’de verilmiştir.

Elektroda potansiyel pulsu ilk uygulandığında, damla üzerindeki yük arttığı için faradayik olmayan akımda da bir dalgalanma olur. Bu akım zamanla üstel olarak azalır ve yüzey alanının çok az değiştiği damla ömrünün sonuna doğru sıfıra yaklaşır. Dolayısıyla akımı bu anda ölçmek sureti ile faradayik olmayan artık akım büyük oranda azaltılır ve sinyal/gürültü oranı artar. Bunun sonucunda

duyarlık da artar (Tural vd., 2006). Bu nedenlerden dolayı son zamanlarda bu yöntem en yaygın kullanılan elektroanalitik yöntem haline gelmiştir.



Şekil 2. 8. (a) Giderek artan bir doğru akım potansiyeline sabit genlikli pulsların uygulanması. Akım 1 ve 2 noktalarında ölçülmektedir. (b) Diferansiyel puls voltametrisinde elde edilen I-E eğrisi.

2.1.5.3. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi

Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) elektrokimyasal sistemlerin karakterizasyonu için güçlü bir tekniktir. Tüm empedans tekniklerinin temel yaklaşımı, elektrokimyasal bir hücreye küçük genlikli sinüzoidal uyarma sinyali uygulamak ve akım, gerilim ya da ilgili başka bir sinyal tepkisini ölçmektir (Metrohm Autolab, 2014) Ohm Kanunu direnci (R), gerilimle (E) akım (I) arasındaki oran ile tanımlar.

$$R = \frac{E}{I}$$

Eşitlikteki ideal direncin kullanımı sadece bir devre elemanı ile sınırlıdır. İdeal bir direnç birkaç basitleştirilmiş özelliğe sahiptir:

- Bütün akım ve gerilim seviyelerinde Ohm Kanununu izler.
- Direnç değeri frekanstan bağımsızdır.

- Alternatif akım ve gerilim sinyalleri dirence rağmen aynı faz içindedir.

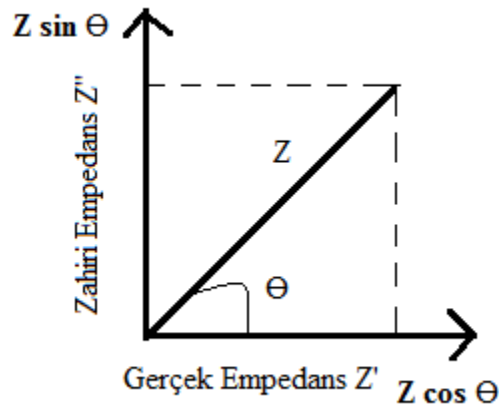
Gerçek sistem çok daha karmaşık davranış sergileyen devre elemanlarını içermektedir. Bu elemanlar, direncin basit kavramının yerini daha genel bir devre parametresi olarak empedans kavramına bırakmıştır (Gamry Instruments, 2014). Empedans “Z” ile gösterilir ve;

$$Z = \frac{E}{I} \quad \text{eşitliği ile ifade edilir.}$$

Empedansın gerçek ve zahiri empedans olmak üzere iki bileşeni vardır;

$$Z = Z_r + jZ_i \quad (j=\sqrt{-1})$$

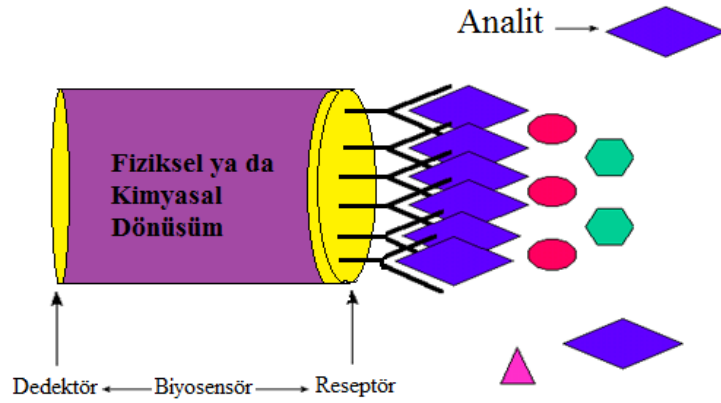
Bu eşitlikte, faz içi Z_r bileşeni, sistemdeki herhangi bir direnç nedeniyle oluşan bileşeni, faz dışı Z_i bileşeni ise yalıtım tabakalarının (elektrokimyasal çift katman ya da ek bariyer) oluşumu ile daha çok ilişkilidir. İmpedimetrik veriler, farklı grafiksel gösterimleri olmasına rağmen en yaygın olarak Nyquist eğrisi ile gösterilmektedir. Bu gösterimde, empedans Z'' ' nin zahiri bölümü, Z_r ' nin gerçek bölümüne karşı grafiğe geçirilmiştir ve Θ açısı da devrede sinusoidal karakterdeki potansiyel ile akım arasında oluşan faz açısını ifade etmektedir(Bonanni and Valle, 2010;)(Bkz Şekil 2. 9).



Şekil 2. 9. Gerçek empedansa (Z') karşı zahiri empedans (Z'') ile oluşturulan Nyquist eğrisi. Θ , devrede sinusoidal karakterdeki potansiyel ile akım arasında oluşan faz açısıdır.

2.2. Biyosensörler

Biyosensör, biyolojik bileşenle fizikokimyasal dedektör içeren analizlenecek maddenin kalitatif veya kantitatif saptanması için kullanılan analitik bir cihazdır. Bir biyosensör genellikle bir biyo-tanıma bileşeni, biyo-dönüştürücü bileşen ve sinyal yükseltici, işlemci ve ekran içeren elektronik sistemden oluşur (Coulet, 1991; Turner, 1987).



Şekil 2. 10. Biyosensörün yapısı.

2.2.1. Biyosensör çeşitleri

Biyosensörler, içerdiği biyolojik bileşene göre iki ana sınıfa ayrılır.

- **Biyokatalitik sensörler;** enzimlerin, hücrelerin, bakteri veya dokuların immobilize bileşenler olarak kullanıldığı aygıtlar.
- **Affinite sensörler;** antikor/ antijen, membran alıcılar veya nükleik asitlerin kullanıldığı aygıtlardır.

Biyosensörler, kullanılan dönüştürücünün çeşidine bağlı olarak dört ana sınıfa ayrılır.

- **Optik:** Biyokimyasal tepkime sonrasında adsorbe edilen veya yayılan ışığın ölçülmesi ilkesine dayanır.
- **Piezoelektronik:** Hedef molekül ile biyolojik tanıma elementi arasındaki etkileşimler nedeniyle meydana gelen kütle değişimini algılama ilkesine dayanır.

▪ **Kalorimetrik:** Analizlenecek maddenin uygun bir biyokomponent ile biyokimyasal tepkimesi sonucu açığa çıkan ısıya bağlı olarak analitin tayinini yapar (Chaubey and Malhotra, 2002).

▪ **Elektrokimyasal:** Biyoetkileşim esnasında gerçekleşen reaksiyonda, elektrokimyasal olarak ölçülebilir bir akım (amperometri), ölçülebilir bir yük yığını veya potansiyel (potansiyometri) değişimleri veya elektrotlar arasındaki ortamın iletkenliğinde değişimler (kondüktometri) oluşur. Bu değişimler ise elektrokimyasal bir dedektör ile ölçülür (Grieshaber et al., 2008).

Elektrokimyasal özelliğine göre elektrokimyasal biyosensörler beş ana sınıfa ayrılır (Chaubey and Malhotra, 2002).

- a) Kondüktometrik
- b) Amperometrik
- c) Potansiyometrik
- d) Voltammetrik
- e) İmpedimetrik

2.2.2 İdeal bir biyosensörde olması gereken özellikler

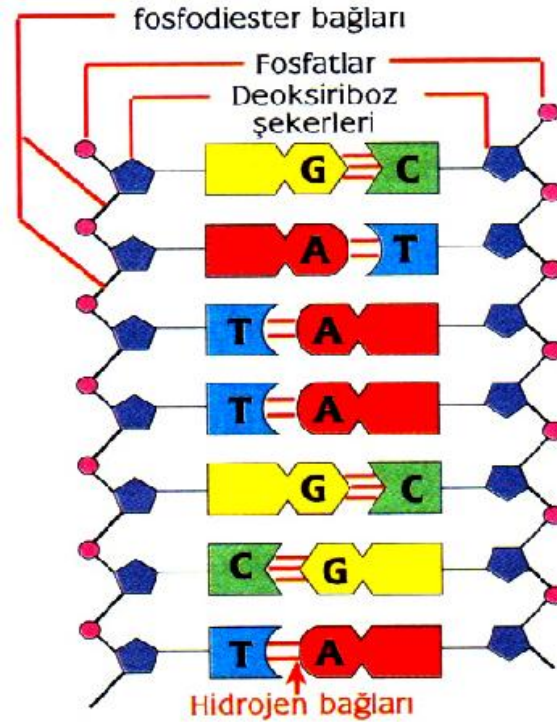
- Seçimli olmalı
- Kullanım ömrü uzun olmalı
- Kalibrasyona gerek duymamalı veya en az kalibrasyona gerek duyulmalı
- Tekrarlanabilir olmalı
- Yüksek kararlılıkta olmalı
- Duyarlı olmalı
- Düşük tayin sınırına sahip olmalı
- Ölçüm aralığı geniş olmalı
- Yanıt süresi kısa olmalı
- Basit ve ucuz olmalı
- Küçültülebilmeli ve sterilize edilebilmelidir (Hall, 1990).

2.2.3. Elektrokimyasal DNA biyosensörleri

Biyo-tanıma bileşeni olarak DNA molekülünün kullanıldığı ve dönüştürücü olarak elektrokimyasal yöntemlerin kullanıldığı biyosensörlere elektrokimyasal *DNA biyosensörleri* ya da *elektrokimyasal genosensörler* denir. Biyosensörler sağladığı birçok avantaj sayesinde bazı hastalıkların teşhisi, mutasyon analizleri, çevre ile ilgili araştırmalar, adli tıp, ilaç etki mekanizmalarının aydınlatılması, klinik araştırmaları gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Mikkelsen, 1996).

2.2.3.1. DNA'nın yapısı

Adenin, Guanin, Sitozin ve Timin bazlarıyla beş karbonlu şeker ve fosfat gruplarından oluşan DNA, canlıların genetik şifresini taşıyan büyük bir moleküldür. Pürin (Adenin, Guanin) ve pirimidin (Sitozin, Timin) bazları birbirine hidrojen bağlarıyla bağlıdır. Adenin ve timin arasında ikili, Guanin ve sitozin arasında üçlü hidrojen bağı vardır (Şekil 2.11)



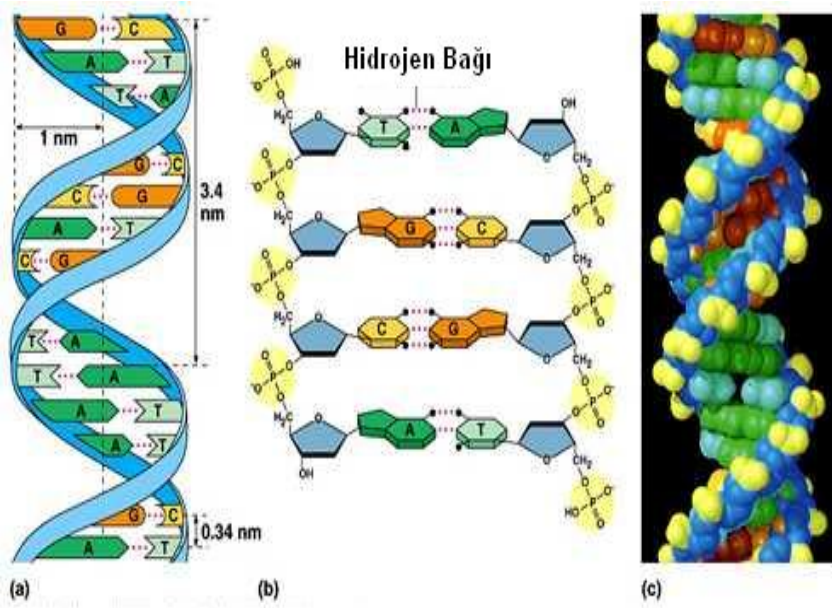
Şekil 2. 11. DNA molekülünün yapısı

DNA molekülündeki bazı bazların (adenin, guanin) elektroaktif özelliği ilk kez 1960 yılında Palecek tarafından bulunmuştur (Palecek, 1960). Elektrokimyasal yöntemlerle birlikte DNA'nın nitel ve nicel analizini yapma amacına yönelik olarak tasarlanan biyosensörlerde tanıma yüzey katmanı olarak DNA kullanılmasına artan bir ilgi bulunmaktadır (Brabec, 1983; Brabec and Koudelka, 1980; Cai et al., 1996).

Biyo-tanıma yüzeyi olarak nükleik asit içeren biyosensörler (genosensörler; gene dayalı sensörler), bu yüzey ile etkileşime giren analitin (karsinojen maddeler, ilaçlar, vb.) etkileşim mekanizmasının aydınlatılması veya miktarının tayini veya DNA'daki baz dizisi belli bölgelerdeki hibridizasyon olaylarının izlenmesi gibi çeşitli amaçlarla kullanılabilirler (Erdem vd., 2000).

2.2.3.2. DNA Hibridizasyonu

Nükleik asit hibridizasyonu, baz çiftlerinin özel hibridizasyon koşullarına bağlı olarak kararlı bir dupleks molekülü oluşturmasıdır.



Şekil 2. 12. DNA molekülünün çift sarmal yapısı

Aranan hedef diziyeye karşılık gelen kısa bir baz dizilimine sahip tek sarmal DNA (prob) elektrot yüzeyine bağlanması ve hedefi içeren bir çözeltiye

biyosensörün uygulanmasıyla elektrot yüzeyinde hibrit oluşumu sağlanır (Palecek, 1996). Analitin DNA ile etkileşmesi sonucunda, incelenen maddenin veya DNA'daki bir bazın sinyalinde meydana gelecek değişiklikler sayesinde güvenilir tayinler yapılabilmektedir (Johnstone et al., 1995).

2.2.4. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, maddenin nanometre boyutunda, yani atomsal, moleküler ve supramoleküler yapılar düzeyinde denetlenmesi yoluyla yeni malzeme, cihaz ve sistemlerin tasarlanmasını ve üretilmesini konu alan bir teknoloji dalıdır. Maddeleri moleküler ya da nanometre düzeyinde ele alan bir mühendislik bilimi olan nanoteknoloji, daha güçlü ve daha hafif elektronik malzemelerin kullanıldığı yeni bir süreç ile bilim insanlarının oldukça geniş bir alandaki çalışmalarında çokça tercih ettikleri malzemeler olmaya devam etmektedir. Bilim adamları gün geçtikçe çalışmalarında daha küçük boyutlara yönelmeye, daha az yer kaplayan, daha az enerji harcayarak daha hızlı çalışabilecek aygıtlar hazırlamaya çalışmışlardır (Erdem, 2007a)

Nanoteknoloji ile üretilen nanopartikül, nanotüp ve nanokablolar gibi gelişmiş fizikokimyasal özelliklere sahip nanomalzemeler, biyomoleküler algılamaya yönelik elektrokimyasal sensörlerin daha seçici ve daha hassas bir şekilde geliştirilebilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Cai et al., 2003; Chen et al., 2001; Çalışkan vd., 2009; Erdem vd., 2006a, 2007a, b, 2010; Mc. Farland and Duyne 2003; Guo et al., 2004; Hahm et al., 2004; Karadeniz vd., 2007a; Koehne et al., 2004; Luo et al., 2006; Merkoçi et al., 2005; Musameh et al., 2002; Muti vd., 2010, 2011, 2012; Özsöz vd., 2003; Ravindran et al., 2003; Salem et al., 2004; Yumak vd., 2011; Wildgoose et al., 2006; Wu et al., 2003).

Nanometre büyüklüğündeki nanomalzemeler sensör tasarımlarında;

- ✓ enzim, DNA, protein vb. gibi biyolojik moleküllerin elektrot yüzeyine doğrudan bağlanmasını kolaylaştırmak,
- ✓ elektrokimyasal reaksiyonları hızlandırmak,
- ✓ biyomalzemeleri nanobarkotlarla etiketlemek,
- ✓ biyomoleküler etkileşim/tanıma reaksiyonu sonucunda oluşan sinyalin duyarlılığını arttırmak,

✓ tanıma yüzeyi ve/veya çevirici bölümün küçültülebilmesi gibi amaçlar için kullanılmakta, bu durum aynı zamanda, biyosensörlerin boyut olarak minyatürize edilebilmesine olanak sağlamaktadır (Erdem vd., 2006a, 2007a; Katz et al., 2004; Luo et al., 2006; Merkoçi et al., 2005; Musameh et al., 2002; Patolsky and Lieber, 2005; Pumera et al., 2007; Vaseashta et al., 2005; Wang 2005a,b; Wildgoose et al., 2006).

2.2.3.1. Altın Nanopartiküller

Günümüzde altın nanopartiküller yeni nesil biyosensörler, özellikle de elektrokimyasal biyosensörler yapımında önemli rol oynamaktadır. Altın nanopartiküllerin elektrokimyasal DNA biyosensörlerinde kullanılmasıyla hem oligonükleotidlerin elektrot yüzeyine immobilizasyonu hem de hibridizasyon olaylarında daha duyarlı sinyallerin alınması sağlanmıştır. Altın nanopartiküllerin özellikleri arasında, yüksek yüzey enerjisi, yüksek yüzey hacim oranı, prostetik gruplarla elektrot yüzeyi arasında elektron iletim yolları oluşturma, elektrot ile redoks probu arasında elektron transferini kolaylaştırması sayılabilir (Pedrero, 2012; Özsöz'den, 2012).

2.2.5. Altın nanopartiküllere dayalı elektrokimyasal biyosensörler

Biyosensörlerin hazırlanmasında altın nanopartiküller, biyomoleküllerin biyolojik aktivitesini muhafaza etmek için kararlı bir yüzey sağlaması gibi önemli bir avantaj sunar. Altın nanopartiküller, elektron transfer medyatörlerine ihtiyaç duymadan redoks probu ile elektrot arasında direk elektron transferini sağlayarak elektrokimyasal ölçüm yapılmasına imkan verir (Pedrero, 2012; Özsöz'den, 2012). Altın nanopartikülleri DNA analizlerinde ilk defa Chad Mirkin ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (He et al., 2000). Günümüze kadar olan dönemde ise altın nanopartiküllerin kullanıldığı birçok elektrokimyasal biyosensör çalışmaları yapılmıştır. Çizelge 2. 1.'de literatürde son yıllardaki çalışmalardan bazı örnekler verilmiştir.

Çizelge 2.1. Altın nanopartiküller ile modifiye edilmiş elektrokimyasal biyosensör çalışmaları. **GCE:** Camı karbon elektrot, **AuNP:** Altın nanopartikül, **BRCA-1:** Göğüs kanseri geni, **APBA:** 3-aminofenilboronik asit, **MPA:** Merkaptopropiyonik asit, **DOTAP:** 1,2-dioleoyil trimetil amonyum propan, **DOPE:** 1,2-dioleoyil sn-glisero-3-fosfoetanolamin, **Cyst:** Sisteamin, **PtE:** Platin elektrot **ITO:** İndiyum kalay oksit, **HIV-1:** İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü , **MoS₂:** Molibden disülfür, **MB:** Moleküler işaret, **SPE:** Perde baskılı elektrot.

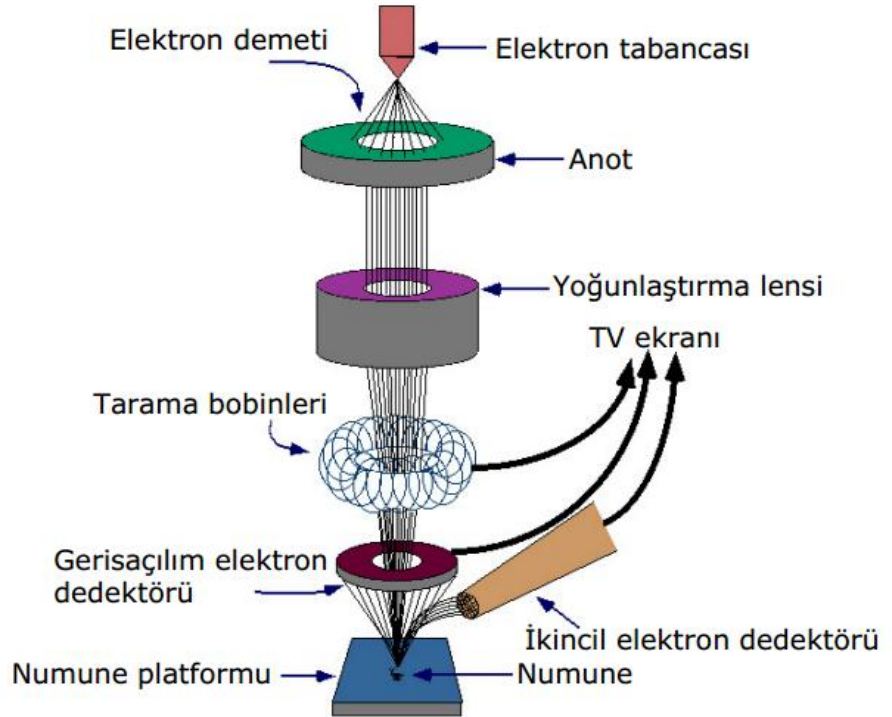
Elektrot	Modifikasyon	Analit	Tayin Sınırı	Literatür
GCE	AuNp	Protein Kinaz A	0.15 unit/mL	Yin et al., 2015
GCE	Grafen/DNA/AuNp	BRCA-1	5.896 fg/mL	Rasheed et al., 2014
GCE	AuNp/Kitosan-İyonik Sıvı/Grafen	Teofilin-Kafein	1.32×10^{-9} - 4.42×10^{-9} mol/L	Yang et al., 2014
AuE	APBA biyotin/AuNp	mikroRNA	3 fM	Liu et al., 2014
AuE	MPA/DOPE-DOTAP/AuNp ve Cyst/DOPE-DOTAP/AuNp	DNA	1 fM ve 100 aM	Bhuvana and Dharuman, 2014
PtE	AuNP	DNA	1 pM	Liu et al., 2013
ITO	AuNP	HIV-1	600 fg/mL-375 pg/mL	Lee et al., 2013
GCE	AuNP-MoS ₂	Dopamin	80 nM	Su et al., 2013
GCE	MB/AuNp	DNA	10^{-16} - 10^{-12} mol/L	Gao et al., 2013
SPE	AuNP/Antikor	Kardiyak Troponin I	0.2 ng/mL	Bhalla et al., 2012

GCE	Polianilin-Nanofiber/AuNp	Kanser hücresi	2000 hücre/mL	Hui et al., 2012
GCE	Grafen/AuNP-Kitosan	Sitokrom C	2.46 μ M	Li et al., 2012
GCE	Polifenilendiamin/AuNp	EV-71	0.04 ng/mL	Kong et al., 2013
ITO	AuNP	Mikobakteri	1.25 ng/mL	Thiruppathiraja et al., 2011
GCE	AuNP	Glukoz	1 μ M	Chen et al., 2014
AuE	AuNP	Pb ²⁺	290 fM	Peng et al., 2014
GCE	Polipirol-AuNP	DNA	8.4x10 ⁻¹³ M	Nowicka et al., 2014
GCE	AuNP	DNA	0.02 mmol/L	Zhang et al., 2011
AuE	AuNP	Mutasyon Analizi	250 pM	Wang et al., 2011
GCE	Polifenilendiamin/AuNP	Teofilin	1.0x10 ⁻⁷ M	Kan et al., 2010

2.2.6. Taramalı elektron mikroskopi tekniği (SEM)

Taramalı elektron mikroskopi birçok alanda sıklıkla kullanılan bir karakterizasyon yöntemidir. Elektronik ve optik sistemlerin birlikte kullanılmasıyla oluşturulan cihaz yüksek büyütmelede, üzerinde işlem ve analiz yapabilme olanağı sunmaktadır.

Tungsten, Lantan hekzaborit katottan veya alan emisyonlu (FEG) tabancadan çıkan elektronlar, incelencek malzeme yüzeyine gönderilir. Elektronların bu yüzeydeki etkileşimlerinden yararlanılır. Tabancadan çıkan elektron demeti önce yoğunlaştırıcı elektromanyetik merceklerle toplanır, objektif merceklerle odaklanır ve elektromanyetik saptırıcı bobinlerle numune yüzeyinde tarama işlemi gerçekleştirilir. Bu elektron demetinin incelenen numune yüzeyiyle yaptığı fiziksel etkileşimler sonucu alınan sinyallerin toplanması ve incelenmesi taramalı elektron mikroskobunun temel çalışma prensibini oluşturarak görüntü oluşumunu sağlamaktadır (Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, 2014). Şekil 2.12.'de taramalı elektron mikroskobunun ana bölümleri gösterilmektedir.



Şekil 2. 13. Taramalı elektron mikroskobunun (SEM) şematik gösterimi

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar

Deneyler ve ölçümler sırasında kullanılan tüm cihaz ve donanımlar:

Terazi (PRESICA XB 220A)

Ses titreşimli cihaz (Bandelin Sanorex)

pH-metre (THERMO Scientific Orion 3 star)

Manyetik karıştırıcı (HEIDOLPH MR Hei-Mix S,)

Vorteks (VELP Scientifica ZX Classic)

Potansiyostat (IVIUM Compact Stat Module ve IVIUM Soft yazılım programı)

Ag/AgCl referans elektrot (BAS)

Platin tel (Yardımcı elektrot olarak kullanıldı)

3.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

5-Amino-1,3,4-tiadiazol-2-tiyol (AMT)	(Sigma)
Kolloidal Au Çözetisi (10 nm partikül çapı)	(Aldrich)
Asetik Asit (%99-100)	(Merck)
Sodyum hidroksit	(Merck)
Dipotasyum monohidrojen fosfat	(Merck)
Potasyum dihidrojen fosfat	(Merck)
Tris (hidroksimetil) aminometan hidroklorür	(Sigma)
Sodyum klorür	(Sigma)
EDTA disodyum tuzu	(Sigma)

Potasyum hegzasiyano ferrat	(Sigma-Aldrich)
Potasyum hegzasiyano ferrit	(Sigma-Aldrich)
Potasyum klorür	(Merck)
Dimetil formamit	(Merck)

3.3. Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. AMT çözeltisinin hazırlanması

AMT, çözeltisi 3000 µg/mL konsantrasyonunda DMF içinde 15 dakika ses titreşimli cihazda bekletilerek çözüldü.

3.3.2. AuNP çözeltilerinin hazırlanması

Tüm AuNP seyreltme işlemleri 0.05 M pH: 7.4 fosfat tampon çözeltisi içinde taze olarak yapıldı.

3.3.3. 0,5 M Asetat tampon çözeltisinin hazırlanması (ABS)

Kullanılan 0,50 M asetat tampon çözeltisi litresinde 28,9 mL asetik asit ve 1,168 g NaCl (0,02 mol) içermektedir. Asetat tamponunun oluşturulması ve çözeltinin pH'sının 4,8 değerine ayarlanması 0,1 N NaOH ilavesiyle pH metre ile ölçülerek gerçekleştirildi.

3.3.4. 0,05 M Fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması (PBS)

Ölçümler sırasında kullanılan 0,05 M fosfat çözeltisi, litresinde 1,36 g (0,01 mol) KH_2PO_4 , 6,96 g (0,04 mol) K_2HPO_4 ve 1,168 g NaCl (0,02 mol) içermektedir. Hazırlanan tampon çözeltisinin pH değeri yaklaşık 7,4 olmaktadır. Çözeltinin pH'ı gerekliyse, 0,1 N NaOH ve/veya 0,1 N HCl ilavesiyle pH metre ile 7,4'e ayarlanır.

3.3.5. Tris-EDTA (2-Amino-2-hydroxymethyl-propane-1,3-diol-etilendiamin tetraasetik asit) tampon çözeltisinin hazırlanması

Kullanılan Tris EDTA tampon çözeltisi litresinde 1,576 g Trizma (2-Amino-2-hydroxymethyl-propane-1,3-diol) HCl ve 0,372 g EDTA içermektedir. Çözeltinin pH'sının 8,0 değerine ayarlanması, 0,1 N NaOH ve /veya 0,1 N HCl ilavesiyle, pH metre ile ölçülerek gerçekleştirildi.

3.3.6. Redoks prob çözeltisinin hazırlanması

Empedans ölçümlerinde kullanılan redoks prob çözeltisi, litresinde 0,822 g $K_3Fe(CN)_6$, 1.040 g $K_4Fe(CN)_6$ ve 7,45 g KCl içerecek şekilde ultra saf suda hazırlandı.

3.3.7. DNA Oligonükleotitler:

Sentetik oligonükleotidler TIB MOLBIOL (Almanya) firmasından liyofilize olarak satın alındı.

Oligonükleotidlerin baz dizilimi:

Tiyol işaretli HBV Prob (SH-HBV Prob) (20 baz):

5'-SH-(CH₂)₆- AAT ACC ACA TCA TCC ATA TA-3'

Hedef (20 baz):

5' -TAT ATg gAT gAT gTg gTA TT- 3'

Tek-bazı hedeften farklı dizi (20-baz; MM):

5' -TAT cTg gAT gAT gTg gTA TT- 3'

Rastgele dizi (23-baz; NC):

5'-AAT ACC TgT ATT CCT CgC CTg TC-3'

3.3.8. Oligonükleotid çözeltilerinin hazırlanması

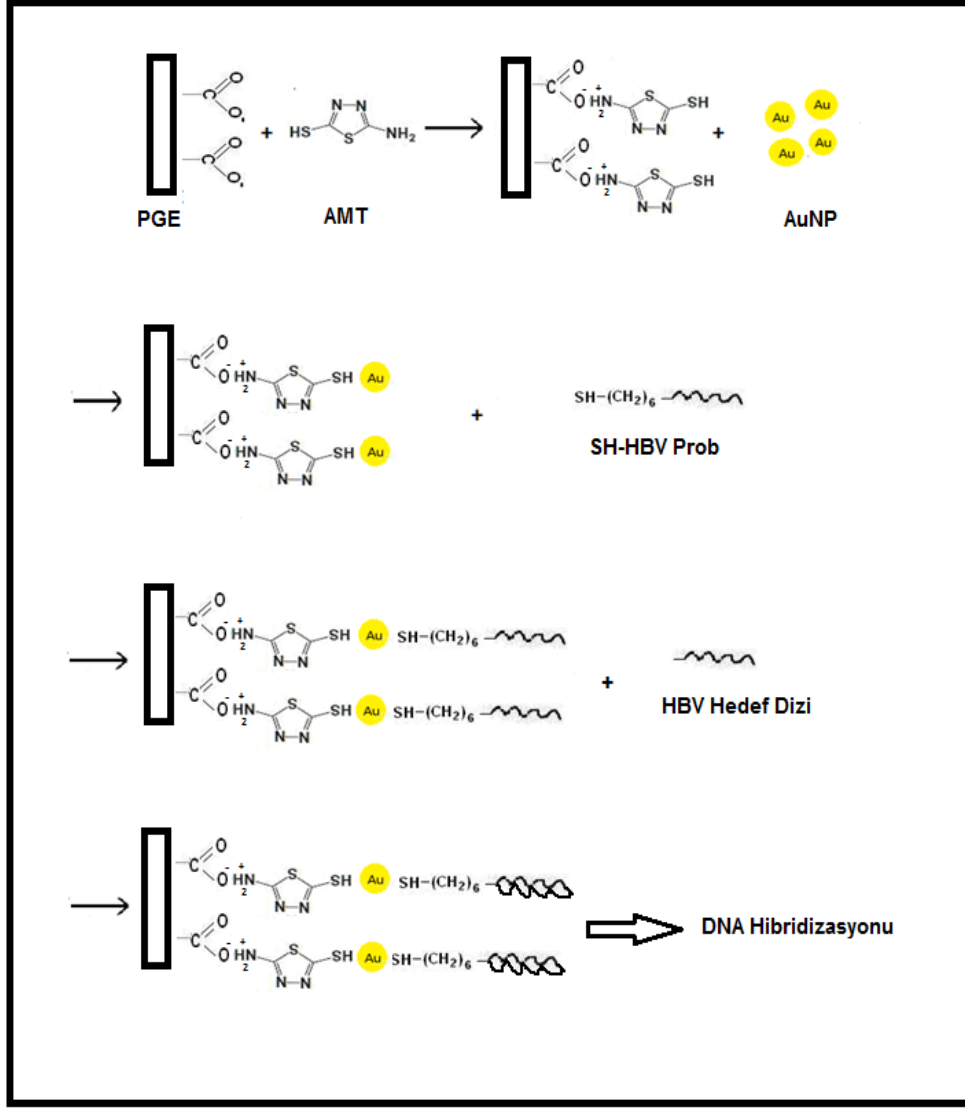
Tüm oligonükleotid stok çözeltileri 500 µg/mL olacak şekilde Tris-EDTA tampon çözeltisi içinde (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH:8,00; TE) hazırlandı ve -20 °C’de saklandı. DNA-ODN ve HBV prob seyreltmeleri 20 mM NaCl içeren 0,5 M asetat tampon çözeltisinde (pH:4,80; ABS), hedef/NC/MM DNA seyreltmeleri ise 20 mM NaCl içeren 0,05 M fosfat (pH:7,4, PBS) ve 20 mM NaCl içeren 0,02 M Tris HCl tampon çözeltisi (pH:7,0, TBS) içinde yapıldı.

3.4. Elektrot Yüzeylerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Karakterizasyonu

Yalın-PGE, AMT-PGE ve AMT-AuNP-PGE yüzeylerinin mikroskobik karakterizasyonu, alan emisyonu taramalı elektron mikroskobu ile (hızlandırma potansiyeli 5.00-10.0 KV) İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü’nde uzman personel tarafından hizmet alımı karşılığında gerçekleştirildi.

3.5. Elektrotların Hazırlanması

Elektrotların modifikasyon aşamaları Şekil 3.1 'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3. 1 Elektrot modifikasyon aşamalarının şematik gösterimi

3.5.1. AMT ile modifiye edilmiş PGE'lerin hazırlanması

İmmobilizasyon işleminden önce elektrotlar kontrollü kulometri yöntemi kullanılarak ABS içerisinde 30 sn süre ile +1,4 V gerilim uygulanarak aktive edildi. Aktive edilen tüm elektrotlar 110 μ L 3000 μ g/mL taze hazırlanmış AMT çözeltisi içeren viyallerde 1 saat süreyle bekletildi ve PGE yüzeyine AMT modifikasyonu gerçekleştirildi. 1 saatin sonunda elektrotlar çıkarıldı ve ters çevrilerek dik konumda yerleştirildi ve karanlıkta 30 dk. bekletilerek kuruması sağlandı.

3.5.2. AMT-PGE yüzeyine AuNP modifikasyonu

AMT ile modifiye edilmiş PGE'ler (AMT-PGE ve p-AMT-PGE) 1 saat süre ile 1/10 oranında seyreltilmiş AuNP çözeltisine daldırıldı. 1 saatin sonunda elektrotlar fofsat tampon çözeltisine 3 kez daldırılarak yıkandı.

3.5.3. Elektrot yüzeyine tiyol işaretli DNA prob tutturulması

AMT-PGE ve p-AMT-PGE'ler 110 μ L, 5 μ g/mL DNA prob çözeltisi içeren viallere 1 saat süreyle bekletildi. 1 saatin sonunda tüm elektrotlar ABS çözeltisine 3 kez daldırılarak yıkamak suretiyle spesifik olmayan bağlanmalar uzaklaştırıldı.

3.5.4. AMT-AuNP-SH HBV DNA Prob PGE yüzeyine hedef dizi, rastgele dizi ve tek bazı hedeften farklı dizinin tutturulması

SH HBV DNA prob ile modifiye edilmiş elektrotlar; 110 μ L, 10 μ g/mL hedef dizi, rastgele dizi ve tek bazı farklıdizi içeren viallere 90 dakika süre ile daldırıldı. Bu süre sonunda tüm elektrotlar TBS çözeltisine 3 kez daldırılarak yıkamak suretiyle spesifik olmayan bağlanmalar uzaklaştırıldı. Hazırlanan modifiye elektrotlarla sonraki aşamalarda hibridizasyon süresi ve hedef konsantrasyon çalışmasına yönelik optimizasyon deneyleri yapıldı.

3.6. Empedans Ölçümleri

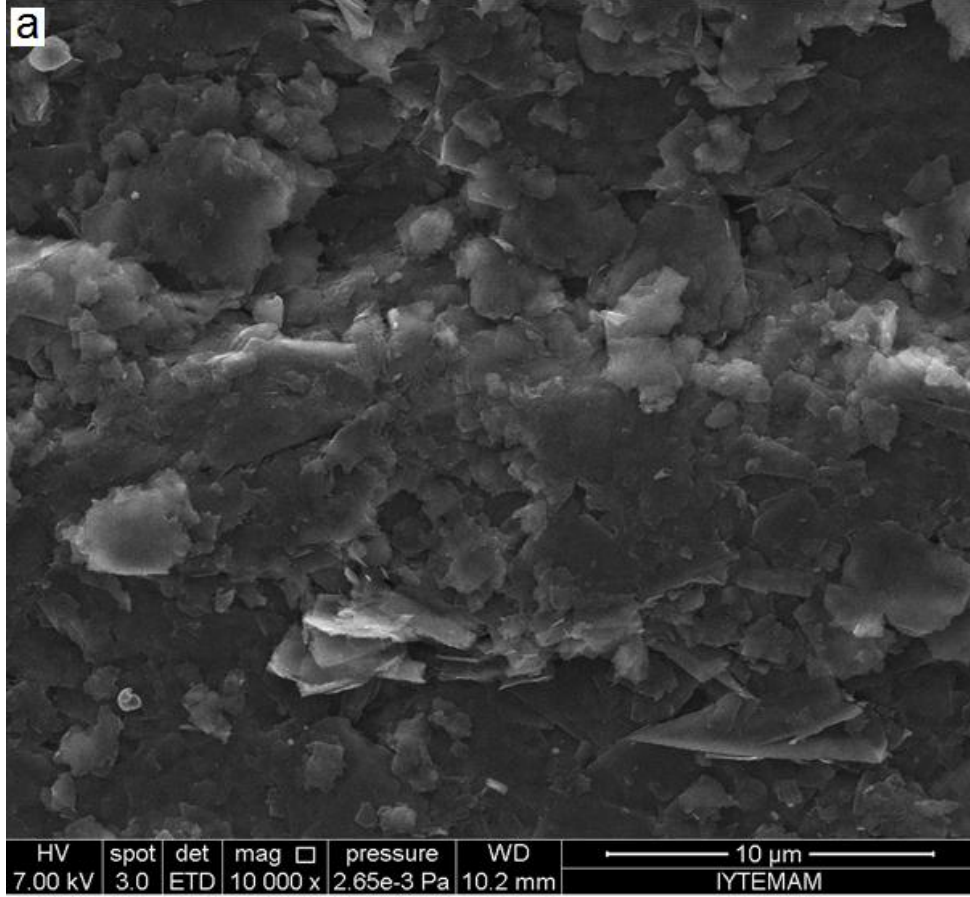
Elektrokimyasal empedans ölçümleri (EIS), 0,1 M KCl içeren 2,5 mM $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ (1:1) karışımı içerisinde 10^5 - 10^{-1} Hz frekans aralığında açık devre potansiyelinde (+0, 22V) gerçekleştirildi. Tüm ölçümler Faraday kafesi içinde gerçekleştirildi.

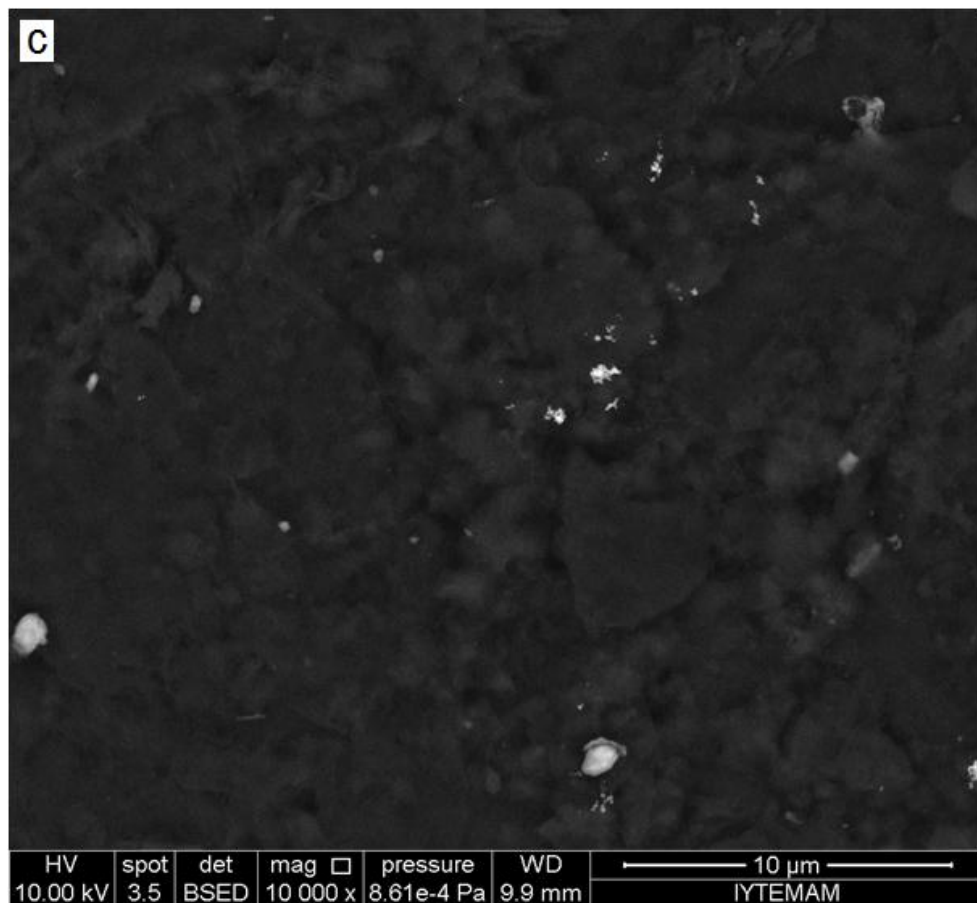
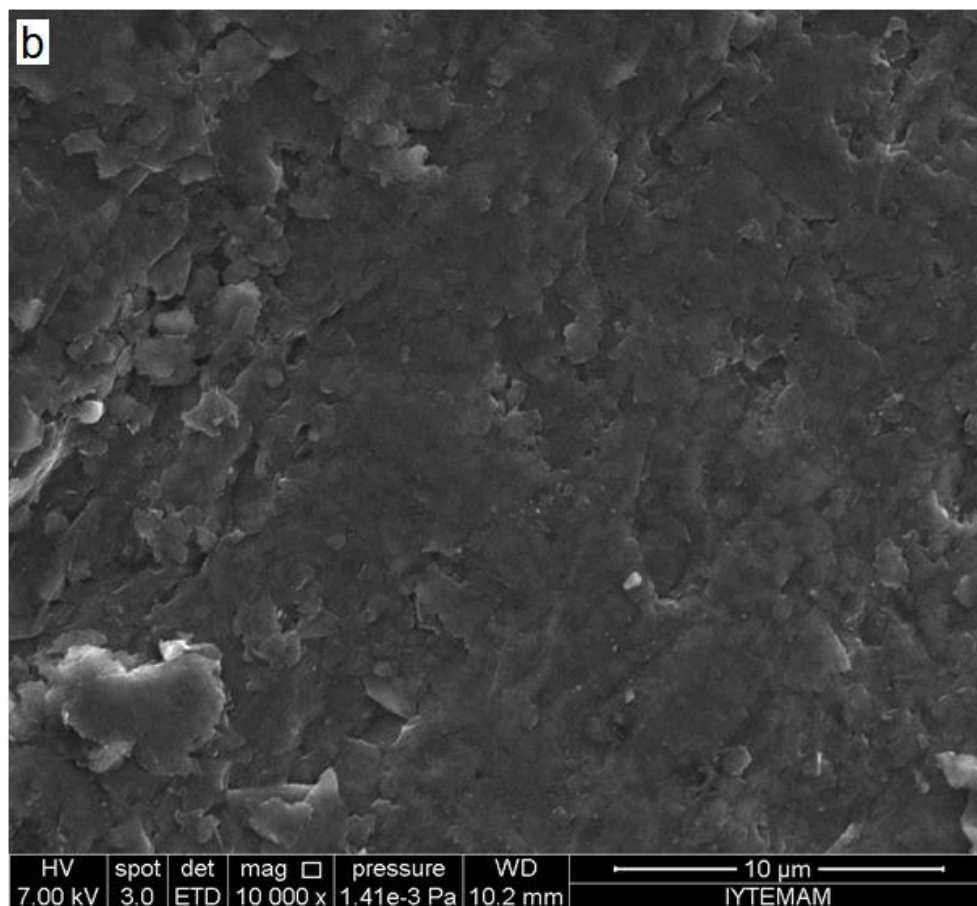
4. BULGULAR

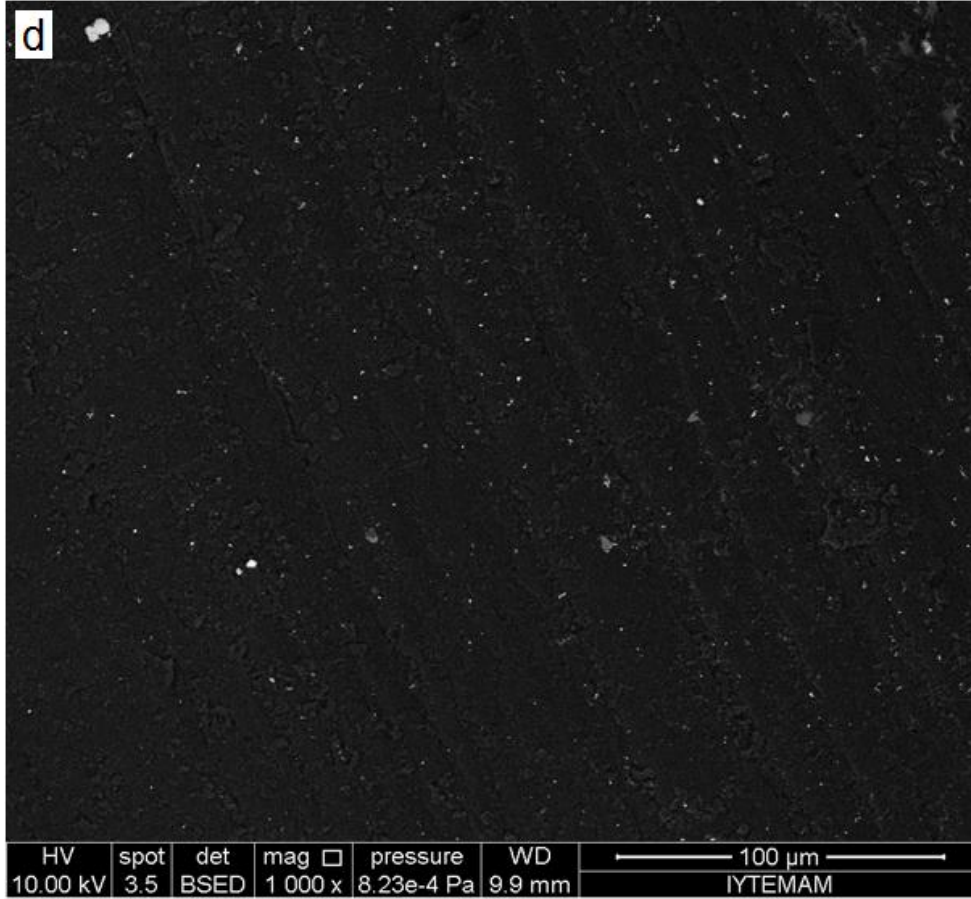
4.1. Kalem Grafit Elektrotların Yüzeylerinin Modifikasyonunun Karakterizasyonuna İlişkin Bulgular

4.1.1. Mikroskobik karakterizasyona yönelik bulgular:

PGE, AMT PGE ve AMT-AuNP PGE SEM ile yüzey karakterizasyonunda elde edilen görüntüler Şekil 4.1’de gösterilmiştir.







Şekil 4. 1. (a) Pret PGE, (b) AMT PGE, (c) AMT-AuNP PGE' nin 10 μm; (d) AMT-AuNP PGE'nin 100 μm çözünürlükte elde edilen SEM görüntüleri

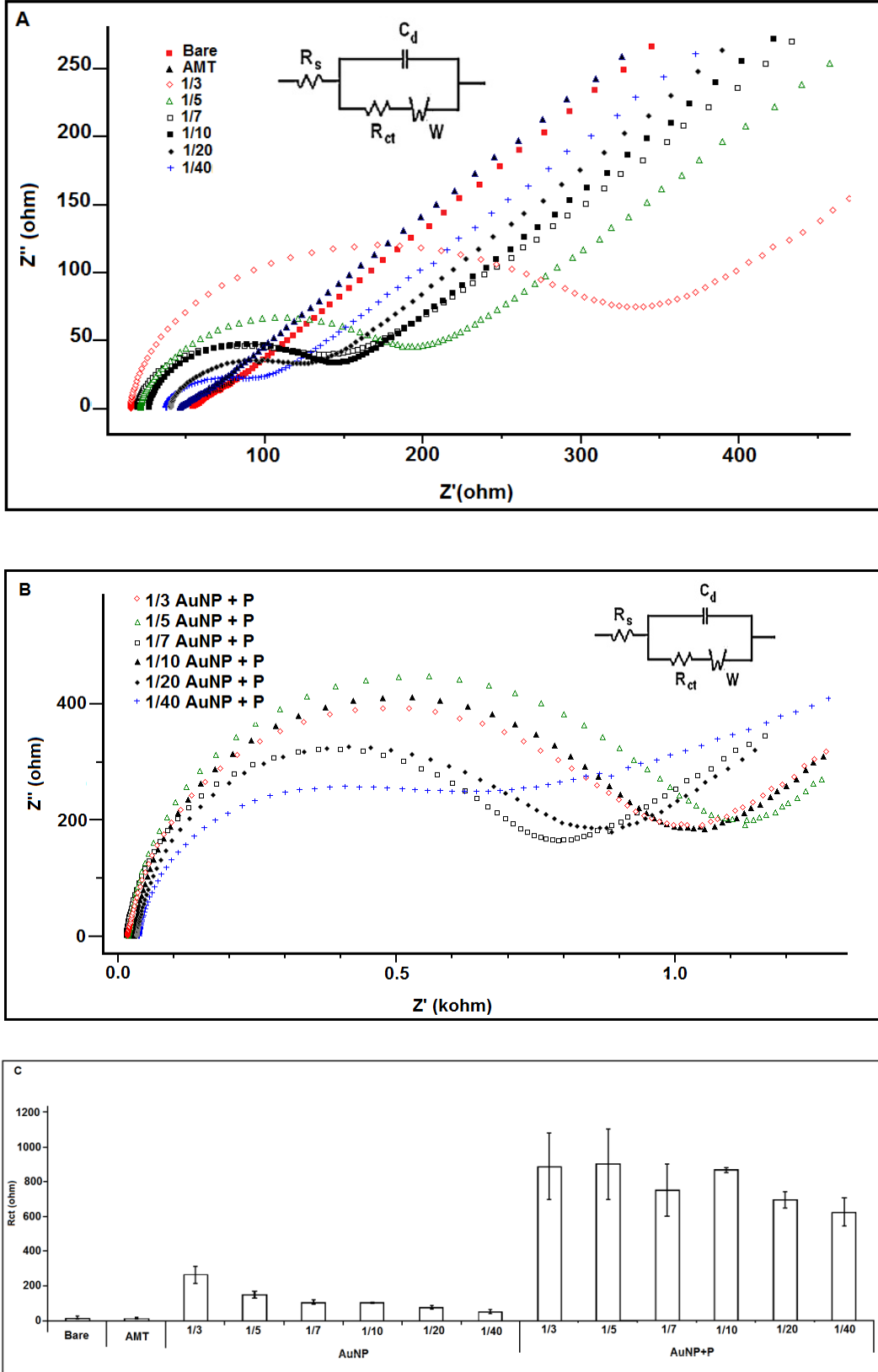
4.1.2. Elektrot yüzeyinin aktivasyonu ve AMT ile yüzey modifikasyonuna yönelik bulgular

AuNP ile modifiye edilmeden önce elektrotlar AMT ile pasif adsorpsiyon yöntemi kullanılarak modifiye edildi (AMT-PGE). Bu işlem öncesinde elektrotlar literatürdeki bilgiler (Muti vd 2012) doğrultusunda Bölüm 3.3.1'de anlatıldığı gibi aktive edildi. Bu aşamada kullanılan AMT, kalem grafit elektrodun yüzeyini kaplayacak optimum derişimde literatürde de ifade edildiği gibi 3000 μg/mL olarak hazırlandı (Muti vd., 2013) ve AMT elektrot yüzeyine immobilize edilmiştir.

4.1.3. AuNP ile modifiye AMT-PGE hazırlanmasında AuNP konsantrasyonunun optimizasyonuna yönelik bulgular

Elektrot yüzeyini modifiye etmede kullanılacak optimum AuNP konsantrasyonunu belirlemek amacıyla PBS içerisinde 6 farklı oranda (1/3, 1/5, 1/7, 1/10, 1/20 ve 1/40) seyreltilerek hazırlanmış olan AuNP çözeltilerine 1 saat

süreyle AMT-PGE'ler daldırılarak modifiye edilen elektrotların her bir seyreltmeden sonra elde edilen yeni elektrot yüzeylerinde meydana gelen transfer edilen yüke karşı oluşan direnç (R_{ct}) ölçüldü. Elde edilen sonuç Şekil 4.2'de görülmektedir.

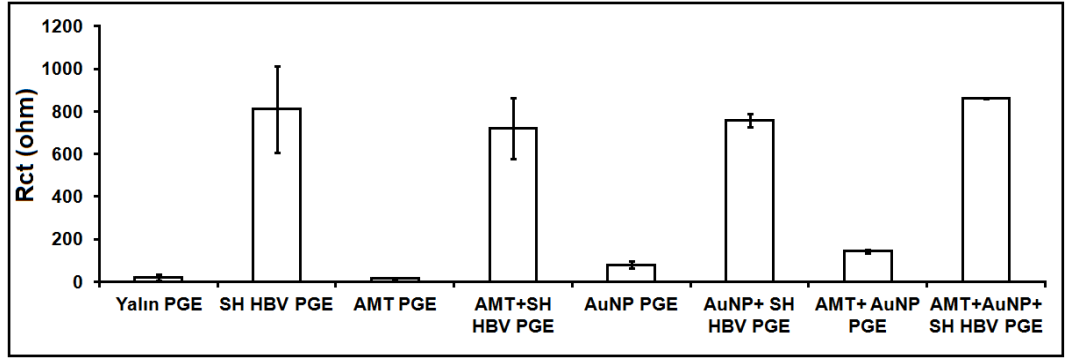


Şekil 4.2: AuNP konsantrasyon çalışması, **A)** ortamda DNA yokken, **B)** modifikasyon sonrası DNA immobilize edilmiş elektrotlarla ölçülen R_{ct} değerlerini gösteren Nyquist eğrileri **ek şekil:** Empedans değerlerine uygun eşdeğer devre modeli. R_s , çözelti direncini; C_d , Sabit faz elementi, DNA/ elektrot ara yüzeyindeki ara yük kapasitansını; R_{ct} , DNA/elektrolit ara yüzeyindeki yük transfer direncini; W , Elektrot yüzeyindeki kütle transferinden kaynaklanan Warburg empedansını göstermektedir. **C)** Nyquist eğrilerinden hazırlanan histogram.

4.2. AMT-AuNP-PGE Yüzeyine Prob (SH-HBV Prob) İmmobilizasyonuna İlişkin Bulgular

4.2.1. SH-HBV probun yalın-PGE, AMT-PGE, AuNP-PGE ve AMT-AuNP-PGE yüzeylerine bağlanma performanslarının karşılaştırılmasına yönelik bulgular:

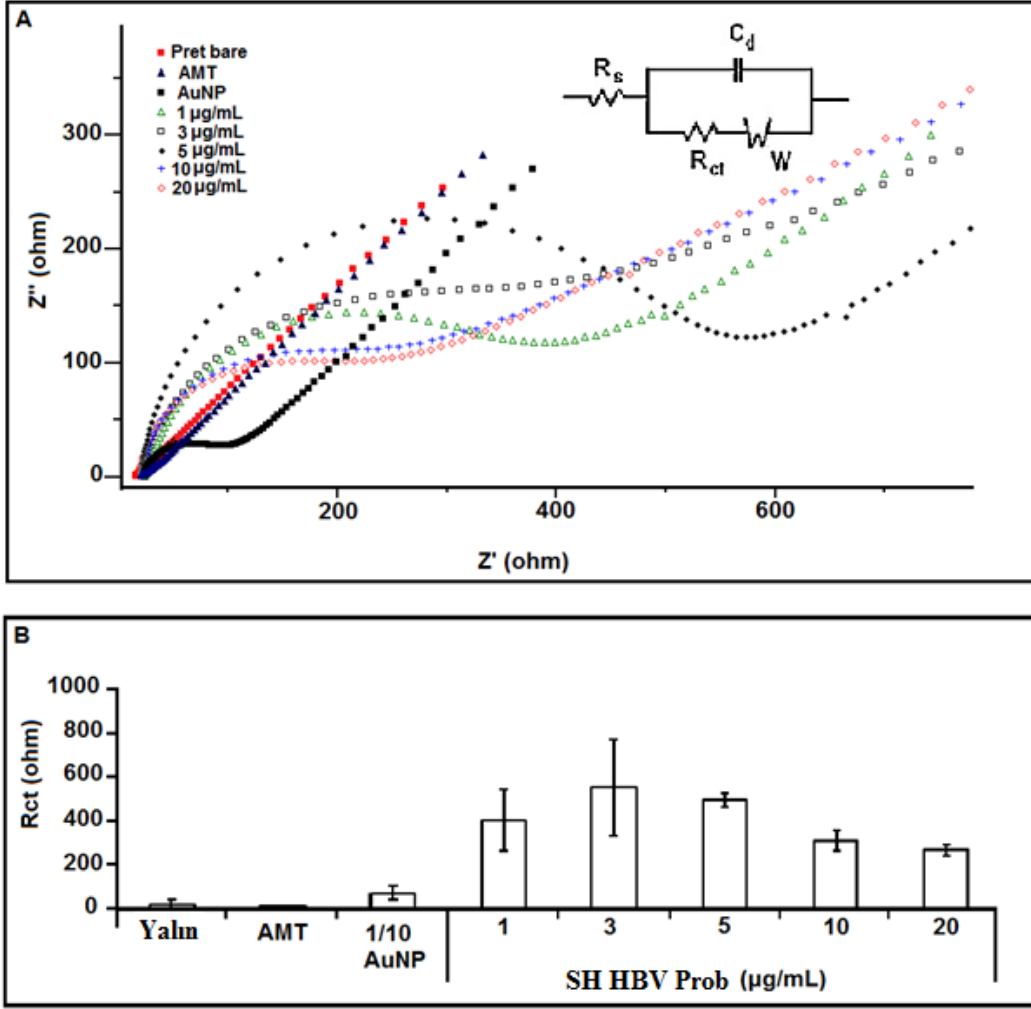
Çalışmamızda tiyol grubu ile işaretli DNA dizisi kullanılmasının sebebi tiyol gruplarının altına olan spesifik bağlanması sonucunda AuNP ile olan etkileşiminden faydalanmaktır. 50 ppm konsantrasyondaki SH-HBV Probun diğer yüzeylere ne ölçüde bağlanabildiğini araştırmak için yapılan çalışmada Şekil 4.3'deki sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 4.3: Farklı elektrot yüzeylerine SH-HBV Prob immobilizasyonu sonrasında elektrotlardan elde edilen yanıtları gösteren histogram.

4.2.2. AMT-AuNP-PGE yüzeyine tutturulacak optimum SH-HBV Prob konsantrasyonunun belirlenmesine yönelik bulgular:

AMT-AuNP kompozit elektrot yüzeyini tam olarak kaplayacak DNA konsantrasyonunu belirlemek amacıyla 5 farklı konsantrasyonda SH-HBV Prob çözeltisi hazırlandı ve elektrot yüzeyine immobilize edildi. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.4'te görülmektedir.

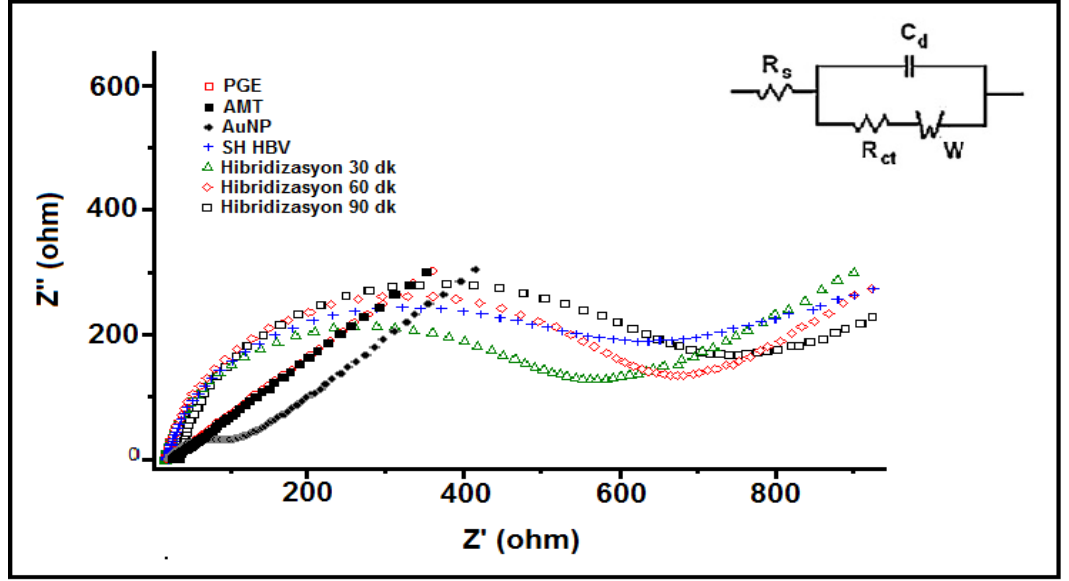


Şekil 4.4: Yüzeyine farklı derişimlerde SH-HBV Probe immobilize edilmiş elektrotların A) Nyquist eğrisi B) R_{ct} değerlerini gösteren histogram

4.3. AMT-AuNP-SH HBV Prob Modifiye Edilmiş Elektrot Yüzeyinde Hibridizasyon Tayinine Yönelik Bulgular

4.3.1. Hedef DNA hibridizasyon süresi çalışması

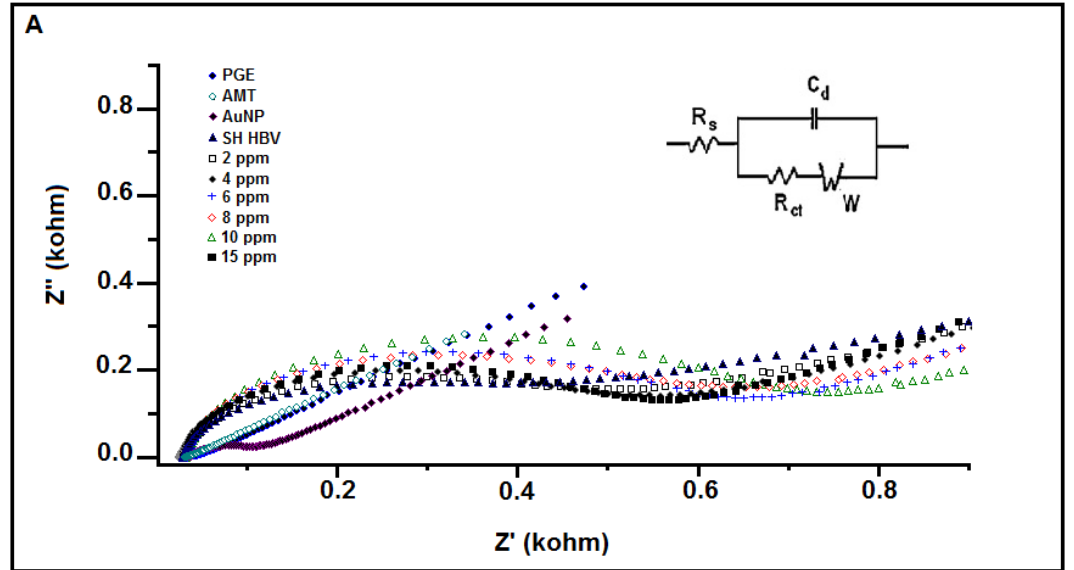
Hibridizasyon süresini belirlemek amacıyla 3 farklı sürede prob ile hedef DNA'nın hibridizasyonundan sonra R_{ct} değeri ölçüldü. Elde edilen nyquist eğrileri Şekil 4.5'te gösterilmektedir.

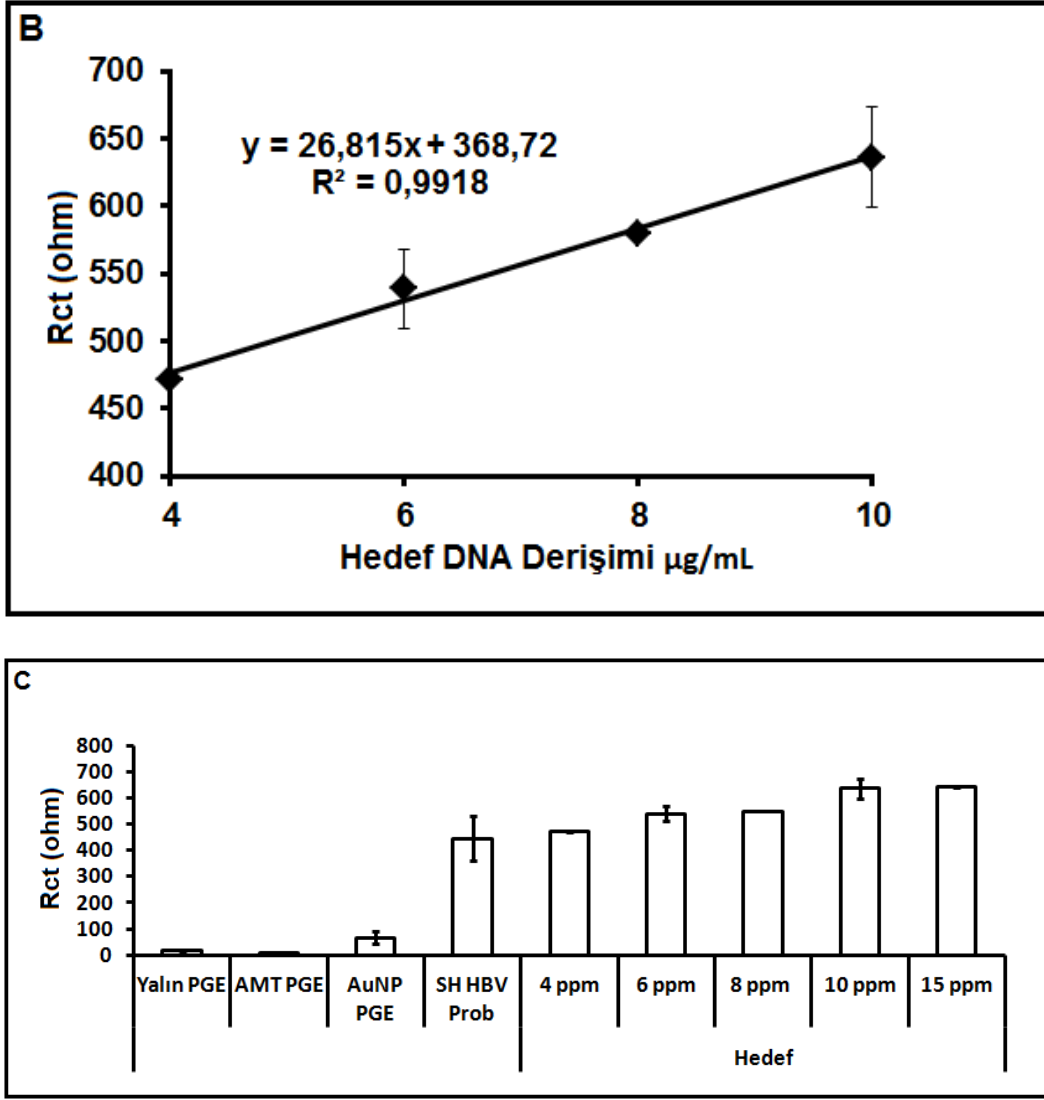


Şekil 4.5: Hedef DNA ile hibridizasyon süresi çalışmasına ait nyquist eğrileri

4.3.2. Hedef DNA konsantrasyon çalışmasına yönelik bulgular:

Elektrot yüzeyine immobilize edilmiş optimum konsantrasyondaki DNA ile hibritleşecek hedef DNA konsantrasyonunun belirlenmesi için 5 farklı hedef konsantrasyonu için hibridizasyon çalışması yapıldı. Elde edilen sonuç hem Nyquist eğrisi ve hesaplanan ortalama R_{ct} değerlerine göre çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.6’da görülmektedir.

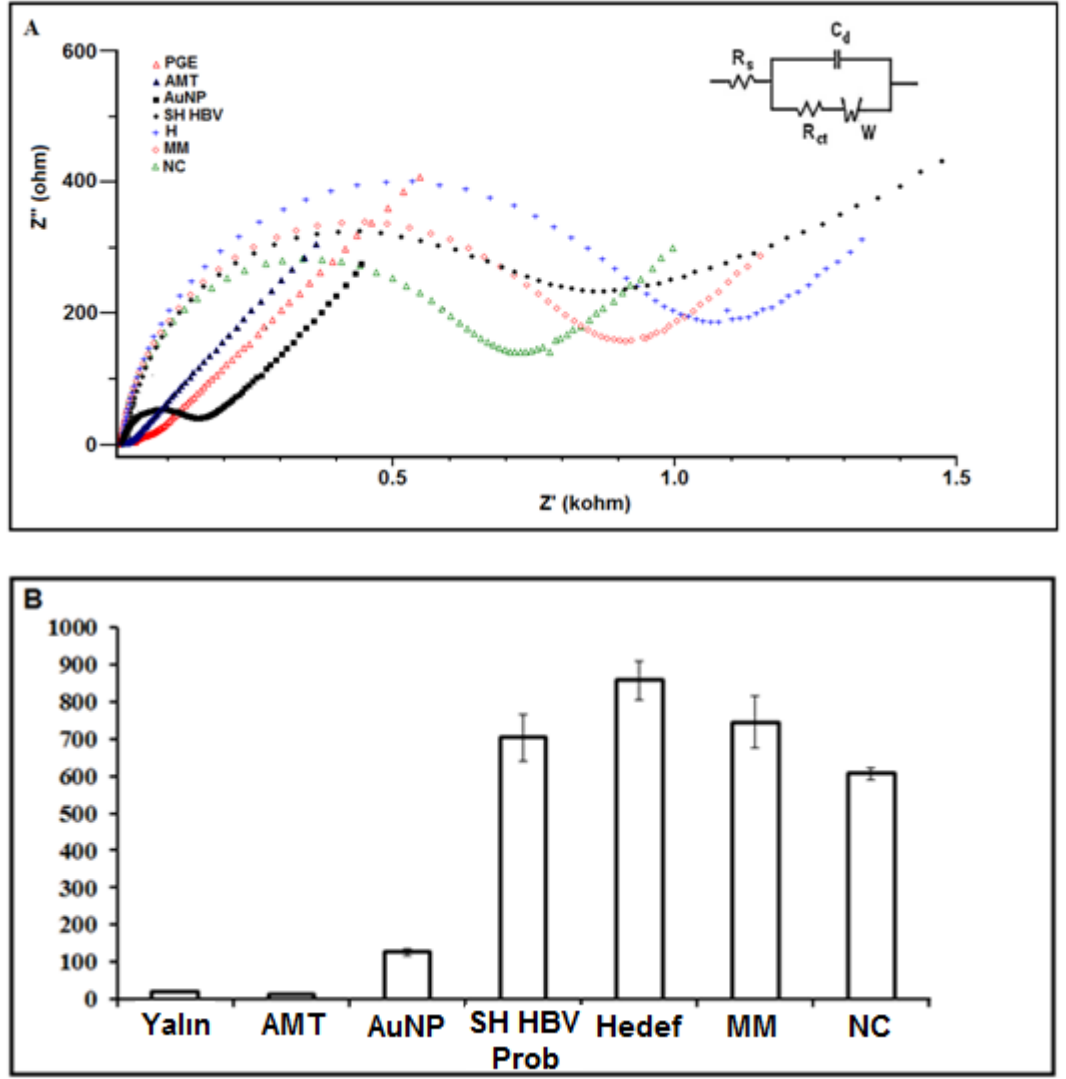




Şekil 4.6: Hedef DNA konsantrasyon çalışmasına ait **A)** Nyquist eğrisi, **B)** Kalibrasyon grafiği, **C)** Histogram

4.3.3. Hibridizasyonda seçimlilik çalışmaları

SH-HBV prob immobilize edilen AMT-AuNP-PGE'lerin 10 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki hedef DNA (H), tek bazı hedeften farklı DNA dizisi (MM), rastgele dizi (NC) ile 90 dakika süreyle hibridizasyonu sonucu seçimlilik performansları karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.7'de görülmektedir.



Şekil 4.7: Seçimlilik çalışmasına ait sonuçlar: **A)** Nyquist eğrisi, **B)** histogram.

5. TARTIŞMA

5.1. Kalem Grafit Elektrotların Yüzeylerinin Modifikasyonunun Karakterizasyonuna İlişkin Tartışma

5.1.1. Mikroskobik karakterizasyona yönelik tartışma:

Yüzeyi modifiye edilmemiş, AMT ile modifiye edilmiş ve AuNP ile modifiye edilmiş elektrot taramalı elektron mikroskopisi ile alınmış görüntüleri incelendiğinde modifiye olmamış kalem grafit elektrodun yüzeyinin pürüzlü bir yapıda olduğu (Şekil 4.1.a), elektrot yüzeyi AMT ile modifiye edildiğinde ise o pürüzlü yapının azaldığı görülmektedir (Şekil 4.1.b). AMT yüzeye pasif adsorbsiyonla modifiye edilmiştir. Jel yapısındaki AMT'nin yalın kalem grafit elektrodun gözenekleri arasına girmesi sonucu yalın elektrodun pürüzlü yapısı kaybolmuş, daha pürüzsüz, bir yüzey elde edilmiştir. Yüzeyi AMT ile modifiye olmuş elektrot yüzeyine AuNP modifikasyonu ise Şekil 4.1. c de açık bir şekilde görülmektedir. 100 μm çözünürlükte alınmış görüntüden ise (Şekil 4.1. d) AuNP'lerin AMT-modifiye elektrot yüzeyine homojen bir şekilde dağıldığı belirgin bir şekilde görülmektedir.

5.1.2. Elektrot yüzeyinin aktivasyonu ve AMT ile yüzey modifikasyonuna yönelik tartışma

Aktive edilmiş olan grafit elektrotlardaki mevcut grupların yükseltgenmesi sonucunda yüzeydeki karboksil gruplarına AMT'nin yapısındaki amino grupları arasında peptit bağının oluşumu sonucunda, AMT elektrot yüzeyine modifiye edilmiştir. Dolayısıyla, AMT modifikasyon sonucunda R_{ct} değeri azalmıştır.

5.1.3. AuNP ile modifiye AMT-PGE hazırlanmasında AuNP konsantrasyonunun optimizasyonuna yönelik tartışma

Literatürde Au ile tiyol grupları arasındaki afiniteye dayalı pek çok çalışma mevcuttur (Cheng et al., 2014; Qian et al., 2014; Tersch and Lisdat, 2011; Witte and Lisdat, 2010; Du et al., 2009; Wang et al., 2012). Genellikle Au elektrot yüzeyinde gerçekleştirilen çalışmalarda tiyol işaretli ajanların immobilizasyonuna yaygın bir şekilde rastlanmaktadır. Karbon elektrotların yüzeyine AuNP modifikasyonunda, bir ara kimyasal ajan kullanılarak veya AuNP'lerin bir polimer

matriks içine tutuklama suretiyle modifikasyonu sözkonusudur. Kalem grafit yüzeyine AuNP'nin doğrudan homojen ve kararlı bir şekilde modifikasyonu ve her elektrotta aynı oranda yüzeye AuNP tutturulması ise neredeyse imkansızdır. AMT, yapısında bulunan tiyol grubu sayesinde AuNP'nin elektrot yüzeyine tutturulmasında bir ara malzeme olarak kullanılmıştır. Altın ile kükürt arasındaki bağlanma afinitesi aşağıdaki şekilde açıklanabilir: Altın yumuşak bir metaldir bununla birlikte kükürt de yumuşak bir lewis asididir. Yumuşak metaller yumuşak lewis asit ve bazılarıyla reaksiyona girer. Bu özellikleri nedeniyle altının boş d orbitallerine elektron transferi gerçekleşir ve bu etkileşim sonucunda Au ile S arasında koordine kovalent bağ oluşmaktadır (Tunalı ve Özkar, 1993)

Çizelge 5.1. AuNP yüzeyine SH-HBV prob immobilizasyonundan sonra ölçülen Rct değerlerindeki değişimler

Farklı Konsantrasyonlarda AuNP ile modifiye Elektrot Yüzeylerine SH-HBV Prob İmmobilizasyonundan Sonraki Rct Artışları					
		Değişim			Değişim
1/3 AuNP Rct:267,7Ω %RSD: %17,7 n=10	1/3 AuNP-SH-HBV Rct:887,7Ω %RSD: %21,5 n=3	3,3 kat artış	1/10 AuNP Rct:106,7Ω %RSD: %3,8 n=3	1/10 AuNP-SH-HBV Rct:868Ω %RSD: %1,6 n= 3	8,1 kat artış
1/5 AuNP Rct:150,7Ω %RSD: %12,8 n=3	1/5 AuNP-SH-HBV Rct:900,3Ω %RSD: %22,3 n=3	5,9 kat artış	1/20 AuNP Rct:78,7Ω %RSD:%12,2 n=3	1/20 AuNP-SH-HBV Rct:695Ω %RSD: %6,6 n=3	8,8 kat artış
1/7 AuNP Rct:106,3Ω %RSD: %13,3 n=3	1/7 AuNP-SH-HBV Rct:752Ω %RSD: %19,7 n=3	7,1 kat artış	1/40 AuNP Rct:53Ω %RSD:%19,9 n=3	1/40 AuNP-SH-HBV Rct:626Ω %RSD: %12,4 n=3	118 kat artış

Yalın elektrot yüzeyine AMT immobilize edildiğinde elektrot yüzeyindeki R_{ct} değeri azalmaktadır. Bu sonuç literatürde yapılmış benzer çalışmanın sonuçları ile uyumludur (Muti vd., 2013). AMT elektroaktif bir moleküldür. Dolayısıyla elektrot yüzeyine immobilize edildiğinde elektron transferini katalizlemektedir. Yüzeye AuNP immobilize edildiğinde ise AMT ile tiyol grupları üzerinden bağlanan altın nanopartiküller R_{ct} değerini artırmaktadır. R_{ct} 'nin AMT ile bağlanan AuNP derişimi ile orantılı bir şekilde artması yüzeyin altın nanopartiküller ile modifiye edildiğini açıkça göstermektedir.

DNA'nın hangi konsantrasyonda AuNP modifiye edilmiş elektroda en yüksek ve kararlılıkta tutunacağını bulmak için aynı çalışma, yüzeye 50 µg/mL tiyol işaretli tek sarmal DNA prob immobilize edilerek tekrarlanmıştır. DNA'nın, 1/10 oranında seyreltilmiş AuNP modifiye edilmiş elektrot yüzeyine en yüksek kararlılıkta bağlandığı (8,1 kat artış), elde edilen R_{ct} değerlerine bağlı olarak anlaşılmaktadır (Çizelge 5.1). Çünkü yüzeye immobilize olmuş olan tek sarmal DNA, yapısındaki negatif yüklü fosfat grupları sayesinde anyonik karakterli redoks probu arasındaki itme kuvvetine bağlı olarak direnç artmaktadır; dolayısıyla R_{ct} değeri artmaktadır (Wang et al., 2013; Yang et al., 2012, 2013; Regan et al., 2014).

5.2. AMT-AuNP-PGE Yüzeyine Prob (SH-HBV Prob) İmmobilizasyonuna İlişkin Tartışma

5.2.1. SH-HBV probun yalın-PGE, AMT-PGE, AuNP-PGE ve AMT-AuNP-PGE yüzeylerine bağlanma performanslarının karşılaştırılmasına yönelik tartışma:

Elde edilen sonuçlara bakıldığında SH-HBV probun yalın grafit elektroda, sadece AMT modifiye edilmiş elektroda, sadece AuNP modifiye edilmiş elektroda ve AMT-AuNP kompozit elektroda tutunduğu dolayısıyla da R_{ct} değerlerinin arttığı görülmektedir. Ancak SH-HBV nin yalın elektroda bağlanma kararlılığı oldukça düşüktür. Bu, yalın elektrotla elde edilmiş R_{ct} değerlerinin tekrarlanabilirliğinin oldukça kötü olmasından anlaşılabılır. AMT-PGE ve AuNP-PGE yüzeyinde SH-HBV prob immobilizasyonundan sonra elde edilen ortalama R_{ct} değerleri hemen hemen aynıdır (722,0 Ohm ve 757,3 Ohm). Ancak Au

nanopartikülleri ile modifiye edilmiş olan elektrodun (AuNP-PGE) SH-HBV prob immobilizasyonu için daha kararlı bir yüzey sunduğu görülmektedir. Elektrot yüzeyi önce AMT, sonrasında AuNP ile modifiye edildiğinde, AuNP'lerin AMT vasıtasıyla elektrot yüzeyine daha kararlı bağlanması ve yüzeyi büyümesi nedeniyle SH-HBV probun bu yüzeye hem daha fazla miktar hem de karalılıkta bağlandığı görülmektedir (862 Ω , RSD=%0,3).

Çizelge 5.2. Modifikasyon aşamalarından sonra elektrotların ölçülen Rct değerlerindeki değişimler

Modifikasyon aşamalarında elektron transfer direncindeki değişimler						
	Yalın	AMT	Değişim	AuNP-	Değişim	AMT-AuNP-
	26,7 Ω	9,4 Ω	2,8 kat azalış	69,7 Ω	7,4 kat artış	143,7 Ω
% RSD	% 52,7	% 9,0		% 4,1		% 0,3
n	10	10		2		2

SH-HBV prob immobilizasyonundan sonra elektron transfer direncindeki değişimler (Yalın PGE ye göre)									
	Yalın	SH-HBV	Değişim	AMT-SH-HBV	Değişim	AuNP-SH-HBV	Değişim	AMT-AuNP-SH-HBV	Değişim
	26,7 Ω	811,2 Ω	30,3 kat artış	661,5 Ω	24,7 kat artış	757,3 Ω	28,3 kat artış	862 Ω	32,2 kat artış
% RSD	% 52,7	% 25		% 20,8		% 4,1		% 0,3	
n	10	2		2		2		2	

5.2.2. AMT-AuNP-PGE yüzeyine tutturulacak optimum SH-HBV

Prob konsantrasyonunun belirlenmesine yönelik tartışma:

Yüzeyi önce AMT daha sonra 1/10 oranında seyreltilmiş AuNP ile modifiye edilmiş elektrotlar farklı konsantrasyonda SH işaretli HBV Prob çözeltisine 60 dakika süreyle daldırılarak optimum DNA konsantrasyonu belirlenmiştir. Bu amaçla 1, 3, 5, 10 ve 20 µg/mL olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda DNA çözeltileri elektrot yüzeyine immobilize edildi. Sonuçlara bakıldığında en yüksek Rct değerinin 3 µg/mL ve 5 µg/mL DNA immobilize edilmiş elektrotlarla elde edildiği ve bu iki konsantrasyon için Rct değerlerinin hemen hemen aynı olduğu görülmektedir. Ancak 5 µg/mL DNA immobilize edilmiş olan elektrotlarla elde edilen Rct değerlerinin daha tekrarlanabilir (RSD= % 6,4; n=3) olması sebebiyle 5 µg/mL konsantrasyondaki DNA'nın elektrot yüzeyine daha kararlı bir şekilde tutunduğunu göstermektedir. Bu nedenle 5 µg/mL, diğer çalışmalarımızda optimum DNA derişimi olarak belirlenmiştir.

5.3. AMT-AuNP-SH HBV Prob Modifiye Edilmiş Elektrot

Yüzeyinde Hibridizasyon Tayinine Yönelik Tartışma

5.3.1. Hedef DNA hibridizasyon süresi çalışmasına yönelik tartışma

30, 60 ve 90 dakika hibridizasyon süreleri sonunda elektrot yüzeyinde meydana gelen Rct değeri ölçüldü. 90 dakika hibridizasyon süresi sonunda diğerlerine kıyasla, ölçülen elektron transfer direncinin en yüksek olduğu saptandı. Seçimlilik çalışmaları 90 dakika hibridizasyon süresi koşullarında gerçekleştirildi.

5.3.2. Hedef DNA konsantrasyon çalışmasına yönelik tartışma:

Elde edilen sonuçlara bakıldığı zaman 4-10 µg/mL hedef DNA konsantrasyonu arasında Rct değerinde kademeli bir artış gözlenmiştir. Hibridizasyondan sonra Rct değerlerinde gözlenen bu artışın sebebi, çift sarmal DNA'daki negatif yüklü fosfat grupları ile anyonik karakterli redoks probu arasındaki itme kuvvetinin artmasına bağlı olarak açıklanmaktadır (Erdem vd.,

2012b). Rct değeriindeki en yüksek artış, 10 $\mu\text{g/mL}$ hedef DNA konsantrasyonunda elde edildiği için, çalışmamızda optimum hedef DNA konsantrasyonu olarak 10 $\mu\text{g/mL}$ belirlenmiştir. Ayrıca kalibrasyon grafiğinden yararlanarak hesaplanan tayin sınırı 0,86 $\mu\text{g/mL}$ (13,6 μM) olarak bulunmuştur. Her bir konsantrasyon için elde edilen Rct değerleri bağıl standart sapma ve ölçüm tekrarları ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 5.3: Hedef DNA konsantrasyonuna karşılık gelen ortalama Rct değerleri

Konsantrasyon, $\mu\text{g/mL}$	Rct, Ω	RSD %	n
4	471,5	0,4	2
6	538,7	5,4	3
8	548,5	0,1	2
10	636,0	5,9	4

5.3.3. Hibridizasyonda seçimlilik çalışmalarına yönelik tartışma

SH-HBV prob immobilize edilmiş olan elektrot yüzeyinde hedef DNA ile hibridizasyon gerçekleştirildiğinde, elektrot yüzeyinde ölçülen ortalama Rct değeri 857 Ω olarak bulunmuş ve prob ile elde edilen değere kıyasla % 34 artış elde edilmiştir. MM ve NC dizileri ile hibridizasyondan sonra daha düşük Rct değerleri ölçülmüştür; bu sonuç hazırlanmış olan prob modifiye sensörün hedef DNA dizisini yüksek seçimlilikte algılandığını göstermektedir. MM dizisi ile hibridizasyondan sonra, hibridizasyondan önceki ortalama değere kıyasla ortalama Rct değerinde % 17 artış görülmüştür. Spesifik olmayan bağlanmalar nedeniyle MM'in girişimi söz konusu olsa da, elde edilen bu değer, hedef DNA ile hibridizasyondan sonra elde edilen Rct değerinden daha düşüktür.

Çizelge 5.4: Seçimlilik çalışması sonucu ölçülen ortalama Rct değerleri

DNA dizisi	Rct, Ω	RSD %	n
Hedef DNA	857,3	6,1	3
MM	745,2	9,3	5
NC	607,5	2,7	2

6. SONUÇ

Tez kapsamında DNA hibridizasyon analizlerine yönelik daha duyarlı, seçimli ve tekrarlanabilir sonuçlar veren nanomalzemelere dayalı elektrokimyasal biyosensörlerin tasarlanması hedeflenmiştir. Çalışmamızda çalışma elektrodu olarak kalem grafit elektrot ve yöntem olarak elektrokimyasal empedans spektroskopi tekniği kullanılmıştır. Tek kullanımlık kalem grafit elektrotları, biyosensör tasarımında kolay uygulanabilirliği, yenilenebilirliği, ucuzluğu, kısa sürede duyarlı ve seçimli yanıt vermesi gibi avantajlı özellikleri sebebiyle, son yıllarda oldukça yeni biyosensör teknolojilerinin geliştirilmesinde yoğun bir şekilde tercih edilmektedir.

Çalışmanın ilk bölümünde elektrot yüzeyinin önce AMT sonra AuNP ile modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. AuNP, yüzeyi AMT ile modifiye edilmiş olan kalem grafit elektrot yüzeyine Au nanopartiküllerin AMT yapısında bulunan tiyol (-SH) gruplarıyla spesifik bağlanması nedeniyle yalın elektroda kıyasla daha yüksek oranda (R_{ct} değerinde 7.4 kat artış) tutunduğu saptanmıştır (Çizelge 5.2). Bu artışın, kalem grafit elektrot yüzeyinin AMT ile modifiye edilmesi sonucunda çözelti ile elektrot ara yüzeyinde gerçekleşen elektron transferinin artmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, altın nanopartikülünün optimum koşullarda AMT modifiye yüzeye modifikasyonunun daha geniş ve kararlı bir yüzey hazırlanması sonucunda da, elektrot yüzeyinin DNA prob immobilizasyonuna hazır hale getirildiği gözlenmiştir. Ayrıca, hazırlanan elektrotların yüzey karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu ile yapılmıştır.

Çalışmada hazırlanan DNA biyosensörlerin tayin sınırı $13,6 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçları, literatürde empedimetrik DNA hibridizasyon tayinine yönelik uygulanan tek kullanımlık elektrotların kullanıldığı diğer bir çalışma (Bonanni et al., 2009) ile kıyaslandığında, tayin sınırı yüksek olmasına rağmen, çalışmamızda hazırlanan modifiye tek kullanımlık elektrotların hazırlama süresi ve kolaylığı açısından avantajları olduğu görülmüştür. Çok daha kısa sürede ve kolay bir şekilde hazırlanması ve ayrıca hazırlanan sensörün maliyetinin oldukça ucuz olması geliştirdiğimiz sensörün üstünlükleri olarak sıralanabilir. Bununla birlikte biyosensörlerde en önemli özelliklerden biri olan

seçimliliğin, hazırladığımız DNA biyosensöründe oldukça iyi olması sensörümüzün bir diğer üstünlüğü olarak vurgulanabilir.

Tez çalışmasında tasarımlanan nanomalzemelerle modifiye edilmiş DNA biyosensörlerin gelecekte farklı nanomalzemelerle yeni sensörlerin hazırlanmasında yol gösterici olması ve DNA çip teknolojisine kazandırılması ümit edilmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aziz, M.A. and Kawde A.N.,** 2013, Gold nanoparticle-modified graphite pencil electrode for the high-sensitivity detection of hydrazine, *Talanta*, 115: 214-221 pp.
- Bhallaa, V., Carrarab, S., Sharmaa, P., Nangiaa, Y. and Suria C.R.,** 2012, Gold nanoparticles mediated label-free capacitance detection of cardiac troponin I, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 161: 761-768 pp.
- Bhuvana , M. and Dharuman V.,** 2014, Construction of Spherical Liposome on Solid Transducers for Electrochemical DNA Sensing and Transfection, *Appl. Biochem,Biotechnol*, 174:1137–1150 pp.
- Bonanni, A., Esplandiu, M.J. and Valle, M.,** 2009, Impedimetric genosensors employing COOH-modified carbon nanotube screen-printed electrodes, *Biosensors and Bioelectronics*, 24: 2885-2891 pp.
- Bonanni, A. and Valle, M.,** 2010, Use of nanomaterials for impedimetric DNA sensors: A review, *Analytica Chimica Acta*, 678: 7-17 pp.
- Brabec, V. and Koudelka, J.,** 1980, Oxidation of deoxyribonucleic acid at carbon electrodes. The effect of the quality of the deoxyribonucleic acid sample, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 7: 793-805 pp.
- Brabec, V.,** 1983, Conformational changes in DNA induced by its adsorption at negatively charged surfaces - The effects of base composition in DNA and the chemical nature of the adsorbent, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 11: 245-255 pp.
- Camman, K., Lemke, U., Rohen, A., Sander, J., Wilken, H. and Winter, B.,** 1991, Chemical sensors and biosensors-principles and applications, *Angew. Chem. Int. De. Engl.*, 30: 516–539 pp.
- Cai, X., Rivas, G., Farias, P.A.M., Shiraishi, H., Wang, J. and Palecek, E.,** 1996, Evaluation of different carbon electrodes for adsorptive stripping analysis of nucleic acids. *Electroanalysis* 8: 753–758 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cai, H., Cao, X., Jiang, Y., He, P. and Fang, Y.,** 2003, Carbon nanotube-enhanced electrochemical DNA biosensor for DNA hybridization detection, *Anal. Bioanal. Chem.*, 375: 287–293 pp.
- Chaubey, A. and Malhotra, B.D.,** 2002, Mediated biosensors, *Biosens. Bioelectron.*, 17: 441-456 pp.
- Chen, R. J., Zhang, Y., Wang, D. and Dai, H.,** 2001, Nancovalent sidewall functionalization of single-walled carbon nanotubes for protein immobilization, *J. Amer. Chem. Soc.*, 123: 3838–39 pp.
- Chen, G., Tong, H., Gao, T., Chen, Y. and Li G.,** 2014, Direct application of gold nanoparticles to one-pot electrochemical biosensors, *Analytica Chimica Acta*, 849: 1-6 pp.
- Cheng, G., Zhao, J., Tu, Y., He, P. and Fang, Y.,** 2005, A sensitive DNA electrochemical biosensor based on magnetite with a glassy carbon electrode modified by multi-walled carbon nanotubes in polypyrrole, *Analytica Chimica Acta*, 533: 11–16 pp.
- Cheng, W., Zhang, W., Yan, Y., Shen, B., Zhu, D., Lei, R. and Ding, S.,** 2014, A novel electrochemical biosensor for ultrasensitive and specific detection of DNA based on molecular beacon mediated circular strand displacement and rolling circle amplification, *Biosensors and Bioelectronics*, 62: 274-279 pp.
- Coulet, P. R.,** 1991, What is a biosensor? Chapter 1; Biosensor principles and applications, L.J. Blum, P. R. Coulet (ed), M. Dekker Inc., New York, 7 pp.
- Caliskan, A., Erdem, A. ve Karadeniz, H.,** 2009, Direct DNA hybridization on the single-walled carbon nanotubes modified sensors detected by voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy, *Electroanalysis*, 19: 2116–2124 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Du, P., Li, H., Mei, Z. and Liu, S.,** 2009, Electrochemical DNA biosensor for the detection of DNA hybridization with the amplification of Au nanoparticles and CdS nanoparticles, *Bioelectrochemistry*, 75: 37-43 pp.
- Eksin, E. ve Erdem, A.,** 2014, Electrochemical determination of homocysteine at disposable graphite electrodes, 26: 1945-1951 pp.
- Ensafi, A.A., Esfahania, P.N., Bafrooeib, E.H. and Rezaei B.,** 2014, Redox targeting of DNA anchored to MWCNTs and TiO₂ nanoparticles dispersed in poly dialyldimethylammonium chloride and chitosan, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121: 99-105 pp.
- Ensafi, A.A., Esfahani, P.N., Bafrooei, E.H. and Rezaei B.,** 2015, Determination of atropine sulfate using a novel sensitive DNA–biosensor based on its interaction on a modified pencil graphite electrode, *Talanta*, 131: 149-155 pp.
- Erdem, A., Kerman, K., Meric, B., Akarca, U.S. ve Ozsoz, M.,** 2000, Novel hybridisation indicator methylene blue for the electrochemical detection of short DNA sequences related to the hepatitis B virus, *Anal. Chim. Acta*, 422: 139–149 pp.
- Erdem, A. ve Ozsoz, M.,** 2002, Electrochemical DNA biosensors based on DNA-drug interactions, *Electroanalysis*, 14: 965–974 pp.
- Erdem, A., Ariksoysal, D. Ö., Karadeniz, H., Kara, P., Sengönül, A., Sayiner, A. A. ve Ozsoz, M.,** 2005, Electrochemical genomagnetic assay for the detection of hepatitis B virus DNA in polymerase chain reaction amplicons by using disposable sensor technology, *Electrochem. Commun.*, 7: 815–820 pp.
- Erdem, A., Papakonstantinou, P. and Murphy, H.,** 2006a, Direct DNA hybridization at disposable graphite electrodes modified with carbon nanotubes, *Anal Chem*, 78: 6656–6659 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Erdem, A., Pividori, M. I., Lermo, A., Bonanni, A., del Valle, M. and Alegret, S.,** 2006b, Genomagnetic assay based on label-free electrochemical detection using magneto-composite electrodes, *Sensors and Actuators B-Chemical*, 114: 591–598 pp.
- Erdem, A.,** 2007a, Nanometrial- based electrochemical DNA sensing strategies, *Talanta*, 74: 318–325 pp.
- Erdem, A., Sayar, F., Karadeniz, H., Güven, G., Ozsoz, M. ve Pişkin, E.,** 2007b, Development of streptavidin carrying magnetic nanoparticles and their applications in electrochemical nucleic acid ensor systems, *Electroanalysis*, 19: 798–804 pp.
- Erdem, A., Karadeniz, H. and Caliskan, A.,** 2009, Single-walled carbon nanotubes modified graphite electrodes for electrochemical monitoring of nucleic acids and biomolecular interactions, *Electroanalysis*, 21: 464–471 pp.
- Erdem, A., Papakonstantinou, P., Murphy, H., McMullan M., Karadeniz H. and Sharma, S.,** 2010, Streptavidin modified carbon nanotube based graphite electrode for label-free sequence specific DNA detection, *Electroanalysis*, 22: 611 – 617 pp.
- Erdem, A., Muti, M., Karadeniz, H., Congur, G. ve Canavar, E.,** 2012, Electrochemical monitoring of indicator-free DNA hybridization by carbon nanotubes–chitosan modified disposable graphite sensors, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 95: 222-228 pp.
- Erdem, A., Congur, G. ve Eksin, E.,** 2013, Multi channel screen printed array of electrodes for enzyme-linked voltammetric detection of MicroRNAs, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 188: 1089-1095 pp.
- Erdem, A., Eksin, E. ve Muti, M.,** 2014, Chitosan–graphene oxide based aptasensor for the impedimetric detection of lysozyme, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 115: 205-211 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Erdem, A., Karadeniz, H., Canavar, P.E. and Congur, G.,** 2012, Single-Use Sensor Platforms Based on Carbon Nanotubes for Electrochemical Detection of DNA Hybridization Related to *Microcystis* spp. *Electroanalysis*, 24: 502 - 511 pp.
- Galandova, J., Trnkova, L., Mikelova, R. and Labuda, J.,** 2009, Investigation of a DNA-based biosensor with chitosan-carbon nanotubes interface by cyclic and elimination voltammetry, *Electroanalysis*, 21: 563–572 pp.
- Gamry Instruments,** “Basics of Electrochemical Impedance Spectroscopy”, <http://www.gamry.com/application-notes/basics-of-electrochemical-impedance-spectroscopy> (Erişim tarihi: 23.12.14)
- Gao, F., Zhu, Z., Lei, J., Geng, Y. and Ju, H.,** 2013, Sub-femtomolar electrochemical detection of DNA using surface circular strand-replacement polymerization and gold nanoparticle catalyzed silver deposition for signal amplification, *Biosensors and Bioelectronics*, 39: 199-203 pp.
- Gholivand, M.B., Shamsipur, M. and Amini N.,** 2014, Nonenzymatic L-lysine amino acid detection using titanium oxidenanoparticles/multi wall carbon nanotube composite electrodes, *Electrochimica Acta*, 123: 569-575 pp.
- Goyal, R. N. and Singh, S. P.,** 2008, Simultaneous voltammetric determination of dopamine and adenosine using a single walled carbon nanotube – Modified glassy carbon electrode, *Carbon*, 46: 1556–1562 pp.
- Grieshaber, D., MacKenzie, R., Vörös, J. and Reimhult, E.,** 2008, Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures, *Sensors*, 8: 1400-1458 pp.
- Gronow, M., Mullen, W.H., Russel, L.J. and Anderton, D.J.,** 1992, Biosensors, Chapter, 15, Molecular Biology and Biotechnology, Walker, J.M., Gingold, E.B. (Eds.), The Royal Society of Chemistry, Cambridge.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Guo, M., Chen, J., Liu, D, Nie, L. and Yao, S.,** 2004, Electrochemical characteristics of the immobilization of calf thymus DNA molecules on multi-walled carbon nanotubes, *Bioelectrochem.*, 62: 29–35 pp.
- Hahm, J. and Lieber, C. M.,** 2004, Direct ultrasensitive electrical detection of DNA and DNA sequence variations using nanowire nanosensors, *Nano Lett.*, 4: 51–54 pp.
- Hall, E.A.H.,** 1990, Biosensors, Ch.1: Biosensors in context, Open University Press, England, 3-30 pp.
- Hassena, W.M., Chaixa, C., Abdelghanib, A., Bessueillea, F., Leonarda, D. and Jaffrezic-Renault, N.,** 2008, An impedimetric DNA sensor based on functionalized magnetic nanoparticles for HIV and HBV detection, *Sensors and Actuators B*, 134: 755–760 pp.
- He, L., Musick M.D. and Nicewarner S.R.,** 2000, Colloidal Au-enhanced surface plasmon resonance for ultrasensitive detection of DNA hybridization, *J. Am. Chem. Soc.*, 122: 9071 – 9077 pp.
- Hosseini, M.G., Faraji, M., Momeni, M.M. and Ershad S.,** 2011, An innovative electrochemical approach for voltammetric determination of levodopa using gold nanoparticles doped on titanium dioxide nanotubes, 172:103–108 pp.
- Hrapovic, S, Liu, Y., Male, K. B. and Luong, J. H. T.,** 2004, Electrochemical biosensing platforms using platinum nanoparticles and carbon nanotubes, *Anal. Chem.*, 76: 1083–1088 pp.
- Hür, E. and Arslan A.,** 2014, New electrode active materials for supercapacitors: Pencil graphite electrode coated with cobalt ion doped poly(3-methylthiophene) and poly (3,4-ethylenedioxythiophene), *Synthetic Metals*, 193: 81-88 pp.
- Johnstone, D. H., Glasgow, K. C. and Thorp, H. H.,** 1995, Electrochemical measurement of the solvent accessibility of nucleobases using electron

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

transfer between DNA and Metal complexes, *J. Am. Chem. Soc.*, 117: 8933–8938 pp.

Kan, W., Liu, T., Zhou, H., Li, C. and Fang, B., 2010, Molecular imprinting polymer electrosensor based on gold nanoparticles for theophylline recognition and determination, *Microchim Acta*, 171:423–429 pp.

Karadeniz H., Erdem A., Caliskan A., Pereira C. M., Pereira E. M. and Ribiero J. A., 2007a, Electrochemical sensing of silver tags labelled DNA immobilized onto disposable graphite electrodes, *Electrochem. Commun.*, 9: 2167–2173 pp.

Karadeniz, H., Alparslan, L., Erdem, A. ve Karasulu, E., 2007b, Electrochemical investigation of interaction between mitomycin C and DNA in a novel drug-delivery system, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45: 322–326 pp.

Karadeniz, H., Erdem, A. ve Caliskan, A., 2008, Electrochemical monitoring of DNA hybridization by multiwalled carbon nanotube based screen printed electrodes, *Electroanalysis*, 17: 1932–1938 pp.

Karadeniz, H., Erdem, A., Kuralay, F. and Jelen, F., 2009, Indicator-based and indicator-free magnetic assays connected with disposable electrochemical nucleic acid sensor system, *Talanta*, 78: 187–192 pp.

Katz, E., Willner, I. and Wang, J., 2004, Electroanalytical and bioanalytical systems based on metal and semiconductor nanoparticles, *Electroanalysis*, 16: 19–44 pp.

Kawde, A.N. and Aziz, M.A., 2014, Porous copper-modified graphite pencil electrode for the amperometric detection of 4-nitrophenol, *Electroanalysis*, 26: 2484-2490 pp.

Koehne, J. E., Chen, H., Cassell, A. M., Ye, Q., Han, J., Meyyappan, M. and Li, J., 2004, Miniaturized multiplex label-free electronic chip for rapid

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

nucleic acid analysis based on carbon nanotube nanoelectrode arrays, *Clin. Chem.*, 50: 1886–1893 pp.

Kong, Y., Li, J., Wub, S., Chengb, W., Ranac, R.K. and Zhu J.J., 2013, Functionalization of poly(o-phenylenediamine) with gold nanoparticles as a label-free immunoassay platform for the detection of human enterovirus 71, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 183: 187-193 pp.

Lee, J.H., Oh, B.K. and Choi J.W., 2013, Electrochemical sensor based on direct electron transfer of HIV-1 Virus at Au nanoparticle modified ITO electrode, *Biosensors and Bioelectronics*, 49: 531-535 pp.

Li, J., Liu, Q., Liu, Y., Liu, S. and Yao, S., 2005, DNA biosensor based on chitosan film doped with carbon nanotubes, *Analytical Biochemistry*, 346: 107–114 pp.

Li, F., Mo, Y., Xiao, D., Yuan, H. and Guo, Y., 2012, Electroanalytical properties of cytochrome c with direct electron transfer on graphene/gold nanoparticles chitosan modified glass carbon electrode, *Analytical Methods*, 4: 3779–3784 pp.

Liu, L., Xia, N., Liu, H., Kang, X., Liu, X., Xue, C. and He, X., 2014, Highly sensitive and label-free electrochemical detection of microRNAs based on triple signal amplification of multi functional gold nanoparticles, enzymes and redox-cycling reaction, *Biosensors and Bioelectronics*, 53: 399-405 pp.

Liu, J., Tian, M. and Liang, Z., 2013, DNA analysis based on the electrocatalytic amplification of gold nanoparticles, *Electrochimica Acta*, 113: 186-193 pp.

Luo, X. L., Morrin, A., Killard, A. J. and Smyth, M R., 2006, Application of nanoparticles in electrochemical sensors and biosensors, *Electroanalysis*, 18: 319–326 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mc Farland, A. D. and Van Duyne, R. P.**, 2003, Single silver nanoparticles as real- time optical sensors with zeptomole sensitivity, *Nano Lett.*, 3: 1057–1062 pp.
- Merkoçi, A., Pumera, M., Llopis, X., Perez, B., Vale, M. and Alegret, S.**, 2005, New materials for electrochemical sensing VI: Carbon nanotubes, *Trends Anal. Chem.*, 24: 826–838 pp.
- Metrohm-Autolab**, “Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) Part 1- BasicPrinciples”,http://www.metrohmautolab.com/download/Applicationnotes/Autolab_Application_Note_EIS01.pdf (Erişim tarihi: 23.12.14)
- Mikkelsen, S.R.**, 1996, Electrochemical biosensors for DNA sequence detection- a review , *Electroanalysis*, 8: 15-19 pp.
- Milczarek, G. and Ciszewski A.**, 2004, 2,2-Bis(3-Amino-4-hydroxyphenyl)hexafluoropropane modified glassy carbon electrodes as selective and sensitive voltammetric sensors. Selective detection of dopamine and uric acid, *Electroanalysis*, 16: 1977-1983 pp.
- Musameh, M., Wang, J., Merkoci, A. and Lin, Y.**, 2002, Low-potential stable NADH detection at carbon-nanotube-modified glassy carbon electrodes, *Electrochem. Commun.*, 4: 743–746 pp.
- Muti, M., Kuralay, F., Erdem, A., Abacı, S., Yumak, T. ve Sinag, A.**, 2010, Tin oxide nanoparticles-polymer modified single use sensors for elektrochemical monitoring of label-free DNA hybridization, *Talanta*, 82: 1680-1686 pp.
- Muti, M., Sharma, S., Erdem, A. and Papakonstantinou, P.**, 2011, Electrochemical monitoring of nucleic acid hybridization by single-use graphene oxide-based sensor, *Electroanalysis*, 23: 272-279 pp.
- Muti, M., Erdem, A., Karagözler, A.E. and Soysal M.**, 2012, 5-Amino-2-mercapto-1,3,4-thidiazole modified single-use sensors for electrochemical DNA analysis, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 93: 116-120 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Muti, M., Gençdağ, K., Nacak, F.M. ve Aslan, A.,** 2013, Electrochemical polymerized 5-amino-2-mercapto-1,3,4-thiadiazole modified single use sensors for detection of quercetin, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106: 181-186 pp.
- Nowicka, A.M., Fau, M., Rapecki, T. and Donten, D.,** 2014, Polypyrrole-au nanoparticles composite as suitable platform for DNA biosensor with electrochemical impedance spectroscopy detection, *Electrochimica Acta*, 140: 65-71 pp.
- Ozsoz, M., Erdem, A., Kerman, K., Özkan, D., Tuğrul, B., Topcuoglu, N., Erken H. ve Taylan, M.,** 2003, Electrochemical genosensor based on colloidal gold nanoparticles for the detection of factor v leiden mutation using disposable pencil graphite electrodes, *Anal. Chem.*, 75: 2181–2187 pp.
- Palecek, E.,** 2002, Past, present and future of nucleic acids electrochemistry, *Talanta*, 56: 809-819 pp.
- Palecek, E. and Fojta, M.,** 2001, DNA hybridization and damage, *Anal.Chem.*, 73: 75A–83A.
- Palecek, E.,** 1960, Oscillographic polarography og highly polymerized deoxyribonucleic acid, *Nature*, 188: 656-658 pp.
- Palecek, E.,** 1996, From polarography of DNA to microanalysis with nucleic acid modified electrodes, *Electroanalysis*, 8: 7-14 pp.
- Patolsky, F. and Lieber, C.M.,** 2005, Nanowire nanosensors, *Materials Today*, 8, 20–28 pp.
- Pedrero, M., Seden, P.Y. and Pingarron J.M.,** 2012, Gold nanoparticle-based electrochemical DNA biosensors, Özsoz M. (Ed), Pan Stanford Publishing, 103-141 pp.
- Peng, Y., Li, L., Yi, X. and Guo L.,** 2014, Label-free picomolar detection of Pb^{2+} using a typical icosahedra gold nanoparticles and Rolling circle amplification, *Biosensors and Bioelectronics*, 59: 314-320 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pumera, M., Sanchez, S., Ichinose, I. and Tang, J.,** 2007, Electrochemical nanobiosensors, *Sensors and Actuators B Chem.*, 123: 1195–1205 pp.
- Qian, Y., Wang, C. and Gao, F.,** 2014, Enzyme-free amplification for sensitive electrochemical detection of DNA via target-catalyzed hairpin assembly assisted current change, *Talanta*, 130: 33-38 pp.
- Rasheed, PA. and Sandhyarani N.,** 2014, Graphene-DNA electrochemical sensor for the sensitive detection of BRCA1 gene, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 204: 777-782 pp.
- Ravindran, S., Chaudhary, S., Colburn, B., Özkan, M. and Özkan, C. S.,** 2003, Covalent coupling of quantum dots to multiwalled carbon nanotubes for electronic device applications, *Nano. Lett.*, 3: 447–453 pp.
- Regana, E.M., Hallettb, A.J., Wonga, L.C.C., Saeedb, I.Q., Jonesb, E.E.L., Buurmab, N.J., Popeb, S.J.A. and Estrela P.,** 2014, A novel cobalt complex for enhancing amperometric and impedimetric DNA detection, *Electrochimica Acta*, 128: 10-15 pp.
- Salem, A. K., Chao, J., Leong, K. W. and Searson, P. C.** 2004, Receptor-mediated self-assembly of multi-component magnetic nanowires, *Adv. Mater.*, 16: 268–271 pp.
- Service, R. F.,** 1998, New focus: Microchip arrays put DNA on the spot, *Science*, 282: 396–399 pp.
- Sharma, A. and Rogers, K.M.,** 1994, Biosensors, *Meas. Sci. Technol.*, 5: 461-472 pp.
- Skoog, D. A., West, D. A. and Holler F. J.,** 1996, Analitik Kimyanın Temelleri, Çeviri editörleri; Kılıç, E., Köseoğlu, F., Bilim Yayıncılık, Ankara, 303-495 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Skoog, D. A., Holler, F. J. and Nieman, T. A.,** 1998, Enstrumantal Analiz İlkeleri, Çeviri editörleri; Kılıç, E., Köseoğlu, F. ve Yılmaz, H. Bilim Yayıncılık, Ankara, 563-670 s.
- Su, S., Sun, H., Xu, F., Yuwen, L. and Wang, L.,** 2013, Highly Sensitive and Selective Determination of Dopamine in the Presence of Ascorbic Acid Using Gold Nanoparticles-Decorated MoS₂ Nanosheets Modified Electrode, *Electroanalysis*, 11: 2523 – 2529 pp.
- Talemi, R.P. and Mashhadizadeh, M.H.,** 2015, A novel morphine electrochemical biosensor based on intercalative and electrostatic interaction of morphine with double strand DNA immobilized onto a modified Au electrode, *Talanta*, 131: 460-466 pp.
- Tersch, C. and Lisdat F.,** 2011, Label-free detection of protein–DNA interactions using electrochemical impedance spectroscopy, *Electrochimica Acta*, 56: 7673– 7679 pp.
- Thiruppathiraja, C., Kamatchiammal, S., Adaikkappan, P., Santhosh, D.J. and Alagar M.,** 2011, Specific detection of Mycobacterium sp. genomic DNA using dual labeled gold nanoparticle based electrochemical biosensor, *Analytical Biochemistry*, 417: 73-79 pp.
- Tunalı, N. K. ve Özkar, S.,** 1993, Anorganik Kimya, Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Yayın No:59, 2. Baskı, Ankara, 220-223s.
- Tural, H., Gökçel, H. İ. ve Ertuş, F. N.,** 2006, Enstrumantal Analiz I Elektroanalitik Yöntemler, Ege Üniversitesi Yayınları Fen Fakültesi Yayın No: 186, 2. Baskı, İzmir, 131-206 s.
- Turner A. P. F.,** 1987, Biosensors: Fundamentals and Applications, Turner A. P. F., karube I., Wilson G. S. (Eds); Oxford University Press, Oxford, s V-VIII.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, <http://www.taek.gov.tr/malzeme-teknolojisi/595-taramali-elektron-mikroskobu-sem-nasil-calisir.html> ,
(Erişim tarihi: 24.12.2014)
- Vaseashta, A.**, 2005, Nanostructured materials based next generation devices and sensors, nanostructured and advanced materials. in A, Vaseashta D., Dimova-Malinovska, J. M. Marshall (Eds.), Springer, Netherlands, 1-30 pp.
- Wang, H., Wang T., Ye, Y.X., Zhang, Y.X., Yang, P.H., Cai H.H. and Cai J.Y.**, 2012, Construction of an electrochemical cytosensor based on polyaniline nanofiber/gold nanoparticle interface and application to detection of cancer cells, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 40:184-190 pp.
- Wang, J.**, 2000, Survey And Summary: From DNA biosensors to gene chips, *Nucl. Acids. Res.*, 28: 3011-3016 pp.
- Wang, J., Kawde, A. N. , Erdem, A. and Salazar, M.**, 2001a, Magnetic bead-based label-free electrochemical detection of DNA hybridization, *Analyst*, 126: 2020–2024 pp.
- Wang, J., Xu, D., Erdem, A., Polsky, R. and Salazar, M. A.**, 2002a, Genomagnetic electrochemical assays of DNA hybridization, *Talanta*, 56: 931–938 pp.
- Wang, J.**, 2002b, Electrochemical nucleic acid biosensors, *Anal. Chim. Acta*, 469: 63–71 pp.
- Wang, J., Flechsig, G. U., Erdem, A., Korbut, O. and Grundler, P.**, 2004a, Label-free DNA hybridization based on coupling of a heated carbon paste electrode with magnetic separations, *Electroanalysis*, 16: 928-931 pp.
- Wang, J., Liu, G. D. and Jan, M. R.**, 2004b, Ultrasensitive electrical biosensing of proteins and DNA: carbon-nanotube derived amplification of the recognition and transduction events, *J. Am. Chem. Soc.*, 126: 3010–3011 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wang, J.**, 2005a, Nanomaterial-based amplified transduction of biomolecular interactions, *Small*, 1: 1036–1043 pp.
- Wang, J.**, 2005b, Nanomaterial-based electrochemical biosensors, *Analyst*, 130: 421–426 pp.
- Wang, Q., Yang, L., Yang, X., Wang, K., He, L. and Zhu, J.**, 2011, Electrochemical biosensors for detection of point mutation based on surface ligation reaction and oligonucleotides modified gold nanoparticles, *Analytica Chimica Acta*, 688: 163-167 pp.
- Wang, W., Yuan, X., Zhang, W., Gao, Q., Qi, H. and Zhang, C.**, 2012, Cascade signal amplification for ultra-sensitive impedimetric detection of DNA hybridization using a hairpin DNA as probe, 78: 377-383 pp.
- Wang, C., Yuan, X., Liu, X., Gao, Q., Qi, H. and Zhang, C.**, 2013, Signal-on impedimetric electrochemical DNA sensor using dithiothreitol modified gold nanoparticle tag for highly sensitive DNA detection, *Analytica Chimica Acta*, 799: 36-43 pp.
- Wildgoose, G. G., Banks, C. E., Leventis, H. C. and Compton, R. G.**, 2006, Chemically modified carbon nanotubes for use in electroanalysis, *Microchim. Acta*, 152: 187–193 pp.
- Witte, C. and Lisdar F.**, 2010, Direct detection of DNA and DNA-ligand interaction by impedance spectroscopy, *Electroanalysis*, 23: 339-346 pp.
- Wu, K., Fei, J., Bai, W. and Hu, S.**, 2003. Direct electrochemistry of DNA, guanine and adenine at a nanostructured film-modified electrode, *Anal. Bioanal. Chem.*, 376: 205–209 pp.
- Yang, T., Guo, X., Ma, Y., Li, Q., Zhong, L. and Jiao, K.**, 2013, Electrochemical impedimetric DNA sensing based on multi-walled carbon nanotubes–SnO₂–chitosan nanocomposite, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 107: 257-261 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yang, G., Zhao, F. and Zeng, B.,** 2014, Facile fabrication of a novel anisotropic gold nanoparticle–chitosan–ionic liquid/graphene modified electrode for the determination of theophylline and caffeine, *Talanta*, 127: 116-122 pp.
- Yang, L., Zhao, H., Fan, S., Li, B. and Li, C.P.,** 2014, A highly sensitive electrochemical sensor for simultaneous determination of hydroquinone and bisphenol A based on the ultrafine Pd nanoparticle@TiO₂ functionalized SiC, *Analytica Chimica Acta*, 852: 28-36 pp.
- Yang, T., Zhou, N., Li, Q., Guan, Q., Zhang, W. and Jiao, K.,** 2012, Highly sensitive electrochemical impedance sensing of PEP gene based on integrated Au–Pt alloy nanoparticles and polytyramine, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 97: 150-154 pp.
- Yıldız, A. ve Genç, Ö.,** 1993, Enstrumantal Analiz, Hacettepe Yayınları, A-64, Ankara, 289-384 s.
- Yin, H., Wang, M., Li, B., Yang, Z., Zhou, Y. and Ai, S.,** 2015, A sensitive electrochemical biosensor for detection of protein kinase A activity and inhibitors based on Phos-tag and enzymatic signal amplification, *Biosensors and Bioelectronics*, 63: 26-32 pp.
- Yumak, T., Kuralay, F., Muti, M., Sınağ, A., Erdem, A. and Abacı S.,** 2011, Preparation and characterization of zincoxide nanoparticles and their sensor applications for electrochemical monitoring of nucleic acid hybridization, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 86: 397-403 pp.
- Zhang, W., Yang, T., Huang, D., Jiao, K. and Li, G.,** 2008, Synergistic effects of nano-Zno/multi-walled carbon nanotubes/chitosan nanocomposite membran for the sensitive detection of sequence-specific of PAT gene PCR amplification of NOS gene, *Journal of Membran Sciences*, 325: 245-251 pp.
- Zhang, Y., Wang, J. and Xu, M.,** 2010, A sensitive DNA biosensor fabricated with gold nanoparticles/poly (p-aminobenzoic acid)/carbon nanotubes modified electrode, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75: 179-185 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Zhang, Q., Dai P. and Yang, Z.,** 2011, Sensitive DNA-hybridization biosensors based on gold nanoparticles for testing DNA damage by Cd(II) ions, *Microchim Acta*, 173:347–352 pp.
- Zhu, N., Chang, Z., He, P. and Fang, Y.,** 2005, Electrochemical DNA biosensors based on platinum nanoparticles combined carbon nanotubes, *Analytica Chimica Acta*, 545: 21–26 pp.
- Zhu, J., Wu, X.Y., Shan, D., Yuan, P.X. and Zhang X.J.,** 2014, Sensitive electrochemical detection of NADH and ethanol at low potential based on pyrocatechol violet electrodeposite on single walled carbon nanotubes-modified pencil graphite electrode, *Talanta*, 130: 96-102 pp.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER:

Ad Soyad: Merve MUTİ

Doğum Yeri ve Tarihi : Aydın/TÜRKİYE-11.02.1989

EĞİTİM BİLGİLERİ:

Lise Öğrenimi: Aydın Adnan Menderes Anadolu Lisesi (2003-2007)

Lisans Eğitimi: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü (2007-2011)

Yüksek Lisans Eğitimi: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı (Şubat 2013-.....)

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

SERTİFİKALAR:

C Sınıfı İş Güvenliği Uzmanlığı Sertifikası (Kasım 2013)

İŞ DENEYİMİ:

Kumsal Group A.Ş.- Kalite Kontrol Müdürü- (2011-2012)

KATILDIĞI PROJELER:

TÜBİTAK-3501 Kariyer Projesi (Nisan 2013-Ağustos 2013)

TÜBİTAK-3001 Araştırma projesi-Bursiyer Öğrenci (Ekim 2014-...)

İLETİŞİM BİLGİLERİ:

E-posta Adresi: mervemuti@yahoo.com