

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KARBON NANOTÜP MODİFİYE SENSÖRLERLE
NÜKLEİK ASİT ETKİLEŞİMLERİN
ELEKTROKİMYASAL TAYİNİ**

Pembe Ece CANAVAR

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 614.02.07.

Sunuş Tarihi : 22.10.2014

Bornova-İZMİR

2014

Pembe Ece CANAVAR tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Karbon Nanotüp Modifiye Sensörlerle Nükleik Asit Etkileşimlerin Elektrokimyasal Tayini” 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 22.10.2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

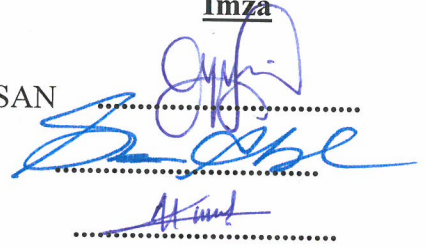
Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı : Prof. Dr. K. Arzum ERDEM GÜRSAN

Raportör Üye : Prof. Dr. Sinan AKGÖL

Üye : Doç. Dr. Hakan KARADENİZ

İmza



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “KARBON NANOTÜP MODİFİYE SENSÖRLERLE NÜKLEİK ASİT ETKİLEŞİMLERİN ELEKTROKİMYASAL TAYİNİ” 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.

22 / 10 / 2014

İmzası

Adı-Soyadı

Pembe Ece CANAVAR

ÖZET**KARBON NANOTÜP MODİFİYE SENSÖRLERLE NÜKLEİK
ASİT ETKİLEŞİMLERİN ELEKTROKİMYASAL TAYİNİ**

CANAVAR, Pembe Ece

Yüksek Lisans Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN
Ekim 2014, 99 sayfa

Çalışmamızda DNA hedefli antitümör etkili bir antibiyotik olan Mitomisin C (MC) ile DNA arasındaki biyomoleküler etkileşim, karbon nanotüpmodifiye tek kullanımlık elektrotlar ile elektrokimyasal olarak incelenmiştir.

Bu kapsamda kullanılan tek kullanımlık kalem grafit elektrotlar (PGE)'inyüzeyine tek duvarlı karbon nanotüp (CNT) ve farklı polimerik malzemelerin karışımı modifiye edilmiştir. Tasarlanan modifiye elektrotlar ile MC-DNA etkileşimi dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel pulsvoltametrisi (DPV) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) teknikleri kullanılarak incelenmiştir. İlaç ve DNA konsantrasyonu ile etkileşim süresindeki değişimin yanıtı olan etkileri araştırılmış ve optimum deneysel koşullar belirlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda CNT ve farklı polimerikmalzemelerin karışımı ile modifiye edilmiş tek kullanımlık grafit elektrotların DNA ve antikanser ilaç MC'nin elektrokimyasal tayininde ile ilaç-DNA etkileşimlerinin elektrokimyasal tayininde kullanılmaya elverişli olduğu saptanmıştır. Geliştirilen CNT temelli tek kullanımlık grafit elektrotlar ile ilaç, DNA ve biyomoleküler etkileşim çalışmalarının maliyeti düşük bir yöntemle, daha kısa sürede, duyarlı ve seçimli bir şekilde gerçekleştirilebileceği görülmüştür.

Anahtar sözcükler: Karbon nanotüpler, Polivinilferrosen, Kitosan, Diferansiyel pulsvoltametrisi, Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi, Kalem grafit elektrotlar, Elektrokimya.

ABSTRACT

ELECTROCHEMICAL MONITORING OF NUCLEIC ACID INTERACTION BY CARBON NANOTUBES MODIFIED SENSORS

CANAVAR, Pembe Ece

Master Thesis, Department Of Biotechnology
Supervisor: Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN
September 2014, 99 page

In this study, the biomolecular interaction between Mitomycin C (MC) and DNA which is an antitumor effective antibiotic was investigated electrochemically by using carbon nanotubes modified single use pencil graphite electrodes (PGEs).

Within this scope, the PGEs were modified by using mixture of single wall carbon nanotubes (CNTs) with various types of polymers. The electrochemical detection of drug, DNA and drug DNA interaction with cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV) and was performed impedance spectroscopy (EIS) techniques. The effects of DNA concentration, drug concentration and interaction time were also examined up onto sensor response and optimal experimental conditions were determined.

As a conclusion, the PGEs modified by the mixture of CNTs in various type of polymers were developed in our study and they were found suitable for the electrochemical detection of MC, DNA and drug DNA interaction. It was shown that these novel designed electrodes based on CNTs could yield the selectively and sensitively electrochemical monitoring of drug, DNA and biomolecular interactions in a shorter time and cost effective way.

Keywords: Carbon nanotube, Polyvinylferrosen, Kitosan, Differential pulse voltammetry, Electrochemical impedance spectroscopy, Pencil graphite electrodes, Electrochemistry.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince değerli katkılarından dolayı danışmanım Sayın Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Tez çalışmamın bir bölümünü oluşturan tek duvarlı karbon nanotüp/polivinilferrosen (CNT/PVF) modifiye elektrokimyasal sensör tasarımını başarıyla yapabilmemiz için gerekli olan polivinilferrosen (PVF) ve CNT/PVF modifiye kalem grafit elektrotların hazırlanması, karakterizasyonu ve tarafımıza sağlanmasındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Filiz Kuralay'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Benden maddi manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşlarım ve aileme teşekkür ederim.

Pembe Ece Canavar

İzmir, 2014

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1 Elektrokimya	7
2.1.1 Elektrokimyasal tabakalar ve kütle aktarım yolları	8
2.1.2. Elektroanalitik yöntemler	11
2.2 Biyosensör	24
2.2.1 Biyosensör çeşitleri ve özellikleri	25
2.2.2 Nükleik asitler ve DNA	27
2.2.3 Elektrokimyasal DNA biyosensörleri	29
2.2.4 Elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin sınıflandırılması	32
2.2.5 Elektrokimyasal yöntemlerle hibridizasyon analizleri	33

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.2.6 Elektrokimyasal yöntemlerle madde DNA Etkileşim analizleri.....	34
2.2.7 Antikanser İlaç-DNA Etkileşimlerinin DNA Biyosensörleri İle Tayini.....	35
2.3. Nanoteknoloji.....	38
2.3.1 Karbon nanotüp uygulamalarına örnekler.....	39
2.4 Elektrokimyasal Biyosensör Uygulamaları Ve Yeni Yaklaşımlar	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1 Kullanılan Cihazlar	46
3.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler	46
3.2.1 MitomisinC (MC)	47
3.2.2 Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	48
3.3 Kullanılan Yöntemler.....	50
3.3.1 Kullanılan elektrotların hazırlanışı.....	50
3.3.2 Modifiye elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonu	52
3.4 MC-DNA Etkileşiminin Modifiye Yüzeylerde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi.....	54
3.4.1 MC-DNA etkileşimin CNT/PVF modifiyePGE yüzeyinde kullanılarak elektrokimyasal olarak incelenmesi.....	54

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.4.2 MC-DNA etkileşiminin Kitosan/CNT modifiye PGE kullanılarak elektrokimyasal olarak incelenmesi	55
4. BULGULAR.....	58
4.1 MC-DNA Etkileşiminin PVF ve CNT/PVF Modifiye PGE Yüzeylerinde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Yönelik Çalışmaya İlişkin Bulgular	58
4.1.1 PVF ve CNT/PVF modifiyePGE’lerinelektrokimyasal davranışının incelenmesine ait bulgular	58
4.1.2 MC ile DNA etkileşimin CNT/PVF modifiyePGE yüzeyinde elektrokimyasal olarak incelenmesine ait bulgular	60
4.2 MC-DNA Etkileşiminin Kitosan ve Kitosan/CNT ModifiyePGE Yüzeylerinde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Yönelik Çalışmaya İlişkin Bulgular	62
4.2.1 Modifiye edilmemiş PGE, kitosan, CNT, ve kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterizasyonuna ilişkin bulgular	62
4.2.2 Kitosan/CNT modifiyePGE’lerin elektrokimyasal davranışının incelenmesine ait bulgular	63
4.2.3 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde MC DNA etkileşiminin DPV tekniği ile incelenmesi	66
5. TARTIŞMA.....	70
5.1 MC-DNA Etkileşiminin PVF ve CNT/PVF ModifiyePGE Yüzeylerinde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Yönelik Tartışma.....	70

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
5.1.1 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE’lerin elektrokimyasal davranışının İncelenmesine yönelik tartışma.....	70
5.1.2 MC ile DNA etkileşimin CNT/PVF modifiyePGE yüzeyinde elektrokimyasal olarak incelenmesine yönelik tartışma.....	72
5.2 MC-DNA Etkileşiminin Kitosan ve Kitosan/CNT ModifiyePGE Yüzeylerinde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Yönelik İlgili Tartışma.....	74
5.2.1 Kitosan/CNT modifiyePGE’lerinelektrokimyasal davranışının incelenmesine yönelik tartışma.....	74
5.2.2 Kitosan/CNT modifiyePGE yüzeyinde MC DNA etkileşiminin DPV tekniği ile incelenmesine yönelik tartışma	77
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	80
KAYNAKLAR DİZİNİ	82
ÖZGEÇMİŞ	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Elektrot yüzeyindeki tabakaların şematik olarak gösterilmesi	9
2.2 Elektrot yüzeyinde oluşan elektriksel çift tabaka	10
2.3 Elektroanalitik yöntemler	11
2.4 Şematize edilmiş voltametrik hücre	12
2.5 Üçlü elektrot sistemi ve potansiyostatın şematize edilmiş hali	13
2.6 Üçlü elektrot sistemi ve potansiyostatın şematize edilmiş hali	14
2.7 Gümüş/gümüş klorür referans elektrot	16
2.8 Karbon Pastası Elektrodu	17
2.9 Kalem Grafit Elektrot	18
2.10 Dönüşümlü voltametriye elektroda uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği (a) ve elde edilen akım-gerilim eğrisi (b).	19
2.11 Dönüşümlü voltametriye farklı voltamogramlar	20
2.12 Diferansiyel pulsvoltametrisi için uyarma sinyalleri	21
2.13 Nyquist diyagramı	23
2.14 Biyosensörün kısımları	24
2.15 Biyosensörlerin sınıflandırılması	25
2.16 Kullanılan çevirici sisteme göre biyosensörlerin sınıflandırılması	25

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.17 DNA'nın yapısı	28
2.18 Guanin'nin yapısı	30
2.19 Adenin'in yapısı	31
2.20 Mitomisin C'nin kimyasal yapısı.....	37
2.21 Fulleren	39
2.22 Karbon nanotüpler (CNT); (A) tek duvarlı ve (B) çok duvarlı.....	40
3.1 Mitomisin C'nin kimyasal yapısı.....	47
4.1 Deneysel şema ile birlikte (a) modifiye edilmemiş, (b) PVF modifiye ve (c) CNT/PVF modifiyePGE'ye ait dönüşümlü voltametri (CV) (0,1 M NaClO ₄ içeren PBS içerisinde 0,0 V dan + 1,0 V'a, Ag/AgCl elektroda karşı 100 mV/s tarama hızında) ölçümlerine ait voltamogramlar	58
4.2 Elektrokimyasal empedans spektroskopisi tekniği ile ölçülerek elde edilmiş (a) modifiye edilmemiş, (b) PVF modifiye ve (c) CNT/PVF modifiye elektrotlara ait Nyquist diyagramları. Empedans ölçümleri 2,5 mM K ₃ [Fe(CN) ₆]/ K ₄ [Fe(CN) ₆] (1:1) karışımı içeren 0.1 M KCl içerisinde gerçekleştirilmiştir. Figür içinde görülen eşdeğer devre ise empedans verilerinin modellenmesinde kullanılmaktadır. R _s çözelti direnci, C _d elektrot çözelti ara yüzeyindeki boşlukta oluşan kapasitans şarjı, R _c elektrot çözelti ara yüzeyindeki elektron transfer direnci ve W elektrot yüzeyine doğru gerçekleşen kütle aktarımına bağlı olarak Warburg empedansını temsil etmektedir.	59

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil

Sayfa

4.3 Temsili voltamogram CNT/PVF ve PVF modifiye PGE yüzeylerinde 1 saat süre ile 500 µg/mLdsDNA immobilize edildikten sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyallerini göstermektedir. (a) CNT/PVF modifiye, (b) PVF modifiye PGE. (c) kontrol çalışması olarak DNA immobilize edilmemiş CNT/PVF ve PVF modifiye PGE'lere ait sinyal.....60

4.4 (A) CNT/PVF modifiye PGE yüzeyinde 20 µg/ mL MC ile 200 µg/mLdsDNA'nın (a) etkileşim öncesi, (b) etkileşim sonrasında yapılan DPV ölçümlerinde elde edilen guanin yükseltgenme sinyallerine ait temsili voltamogramlar. (B) CNT/PVF modifiye PGE yüzeyinde 0 ile 40 µg/mL arası değişen konsantrasyonlarda MC ile 200 µg/mLdsDNA'nın etkileşimi sonrasında ölçülen guanin yükseltgenme sinyaline ait ortalama değerlerin bulunduğu histogram61

4.5 CNT/PVF modifiye PGE yüzeyinde 20 mg/mL MC ile 200 mg/ mLdsDNA etkileşiminde etkileşim süresinin guanin sinyaline etkisini gösteren histogram..62

4.6 5,0 ile 10,0 kV arasında değişen hızlandırma potansiyellerinde, 10 µm, 2 µm ve 500 nm büyüklüklerde (a-c) modifiye edilmemiş PGE, (d-f) Kitosanmodifiye PGE, (g-i) CNT modifiye PGE ve (k-l) Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinden elde edilen SEM görüntüleri63

4.7 Deneysel şema ile birlikte modifiye edilmemiş PGE (a), Kitosan modifiye PGE (b), CNT modifiye PGE (c) ve Kitosan/CNT modifiye PGE (d)'ye ait dönüşümlü voltametri (CV) (0.1 M KCl içeren 2 mM K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] (1:1) içerisinde, Ag/AgCl elektroda karşı, 100 mV/s tarama hızında, +0.4 'den +1.2 V'a) ölçümlerine ait voltamogramlar64

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil

Sayfa

4.8 (A) (a) Modifiye edilmemiş PGE, (b) Kitosan ile modifiye edilmiş PGE ve (c) Kitosan/CNT ile modifiye edilmiş PGE, Kitosan/CNT PGE yüzeyinde (d) 50 $\mu\text{g/mL}$ dsDNA immobilize edildikten sonra ve (e) 40 $\mu\text{g/mL}$ MC ile etkileştikten sonra elde edilen Nyquist diyagramları. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ölçümleri 5 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (1:1) karışımı içeren 0.1 M KCl içerisinde gerçekleştirilmiştir. Figür içinde görülen eşdeğer devre ise empedans verilerinin modellenmesinde kullanılmaktadır. R_s çözelti direnci, C_d elektrot çözelti ara yüzeyindeki boşlukta oluşan kapasitans şarjı, R_c elektrot çözelti ara yüzeyindeki elektron transfer direnci ve W elektrot yüzeyine doğru gerçekleşen kütle aktarımına bağlı olarak Warburg empedansını temsil etmektedir. (B) Ardı ardına yapılan 4 EIS ölçümünden sonra (a) PGE, (b) Kitosan PGE (c) Kitosan/CNT PGE ve 50 $\mu\text{g/mL}$ dsDNA immobilize edilmiş Kitosan/CNT PGE yüzeyinde 40 $\mu\text{g/mL}$ MC ile (d) etkileşim öncesi (e) etkileşim sonrasında elde edilen ortalama R_{ct} değerlerinin gösterildiği histogram. 65

4.9 Şekildeki histogramlarda (a) modifiye edilmemiş PGE, (b) Kitosan modifiye PGE ve (c) Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerine; (A) 7.5 dakika süre ile 40 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda MC immobilize edilmiş ve (B) 1 saat süre ile 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda dsDNA immobilize edilmiş elektrotlara ait (A) MC ve (B) guaninin yükseltgenme sinyallerinin ortalama değerleri..... 66

4.10 10 ile 50 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişen konsantrasyonlardaki dsDNA immobilize edilmiş Kitosan/CNT modifiye PGE’lerde yapılan DPV ölçümleri sonucunda elde edilen guanine ait yükseltgenme sinyallerinin artan konsantrasyona bağlı olarak değişen büyüklüklerini gösterildiği kalibrasyon eğrisi. İç figürde ise aynı koşullarda 0 ile 60 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişen konsantrasyonlardaki dsDNA immobilize edilmiş elektrotlara ait sonuçları gösterilmektedir..... 67

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil

Sayfa

4.11 Şekildeki kalibrasyon eğrisi 5 ile 40 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda MC immobilize edilmiş Kitosan/CNT modifiyePGE’lerde yapılan DPV ölçümleri sonucunda elde edilen MC yükseltgenme sinyallerinin artan konsantrasyona bağlı olarak değişimini gösterilmektedir. İç figürde ise aynı koşullarda 0 ile 50 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlardaki MC immobilize edilmiş elektrotlara ait sonuçları gösterilmektedir68

4.12 Şekil içerisinde bulunan şemada da anlatıldığı gibi MC ile dsDNA etkileşimi MC’nin DNA üzerinde bulunan karşılıklı guanin bazlarını çapraz olarak alkillemesine dayanmaktadır. Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde 40 µg/mL MC’nin ile 50 µg/mL dsDNA ile etkileşmesi öncesi ve sonrasında elde edilen (A), (C), (E) DPV sonuçları ve (B), (D), (F) ard arda yapılan üç DPV ölçümünde elde edilen ortalama sinyal yüksekliklerine ait histogramlar gösterilmektedir. (A) ve (B) 7.5 dakika, (C) ve (D) 15 dakika, (E) ve ise (F) 30 dakika etkileşim süresine ait sonuçları göstermektedir. (a) etkileşim öncesi (b) etkileşim sonrasında MC’ye ait yükseltgenme sinyali ve (c) etkileşim öncesi (d) etkileşim sonrasında guanine ait yükseltgenme sinyalini temsil etmektedir.69

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Klasik Elektrokimyasal DNA Biyosensörlerin Uygulamaları	42
2.2 Nanomalzemelere Dayalı Elektrokimyasal DNA Biyosensörlerin Uygulamaları.....	43
2.3 Polimer ve Polimer Nanomalzeme Karışımı ile Modifiye edilmiş Sensörlerin Elektrokimyasal DNA Biyosensör Uygulamaları.....	45

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
t, t_{ij}, t_i	İşlem süresi (dakika)
I_a	Ortalama anodik pik değeri (μA)
<u>Kısaltmalar</u>	
5-FU	5-Fluorouracil
AdSDPV	Diferansiyel pulsadsorptifstrippingvoltametrisi
AuE	Altın elektrot
CNT	Karbon nanotüp
CoHCF	Kobalt hekzasiyoferrat
CPE	Karbon pastası elektrot
CSPE	Perde baskılı karbon elektrot
CV	Döngüsel voltametri
DNR	Daunorubicin
DPV	Diferansiyel pulsvoltametrisi
EIS	Elektrokimyasal empadans spektroskopisi
GCE	Camsı karbon elektrot
GE	Grafit elektrot

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
HBV	Hepatit B virusü
HMDE	Civa damla elektrot
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
LPR	Leuprolide
LYC	Lycorine
MB	Metilen mavisi
MC	Mitomisin C
MWNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
NP	Nanopartikül
PGE	Tek kullanımlık kalem grafit elektrot
PVF ⁺	Poly(vinylferrocenium)
RU	Rutin
SPE	Perde baskılı elektrot
SWCNT	Tek duvarlı karbon nanotüp
SWV	Kare dalga voltametrisi
TB	Toludin mavisi

1. GİRİŞ

Günümüzde gelişen teknolojiye bağlı olarak hızla büyüyen sanayi sektörünün beraberinde getirdiği endüstriyel atıklar ve çevre kirliliği, ekosistem ve canlılar için büyük tehlike arz etmektedir. Bu kirliliğin bir sonucu olarak her geçen gün yeni hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Dolayısı ile her yıl yeni bir türü ile karşılaştığımız ve etkin tedavi yöntemler bulmak zorunda olduğumuz bu hastalıkların teşhisi için yeni yöntemlerin geliştirilmesi ve tedavi amacı ile yeni ilaçların araştırılma süreçlerinin hızlanması zorunlu hale gelmiştir. Bu kapsamda kullanılan birçok yöntem alternatif olarak elektrokimyasal sensör teknolojisi, taşıdığı sayısız avantaj ile yeni bir bakış açısı sunmakta söz konusu çalışmalara ivme kazandırmaktadır. Bu teknolojinin IUPAC tarafından literatüre kazandırılmış tanımı şu şekildedir:

“Elektrokimyasal sensörler; kimyasal bileşiklere, iyonlara seçici ve tersinir bir şekilde yanıt veren etkileşime girdiği maddenin konsantrasyonuna bağlı olarak değişen büyüklükte elektriksel sinyaller oluşturan küçültülmüş cihazlardır”. (Camman et al.,1991). Temel olarak algılayıcı ve dönüştürücü kısım olmak üzere iki ana parçadan oluşan sensörleri, algılayıcı kısımda kullanılan moleküllerden yola çıkarak daha spesifik şekilde sınıflandırmak mümkündür. DNA, enzim, hücre, doku, antikor, nükleik asit vb. biyolojik moleküllerin algılayıcı yüzeyde aktif tanıma molekülü olarak kullanıldığı sensörler “Biyosensör” olarak tanımlanmaktadır (Turner et al., 1987). Benzer şekilde sensörler, farklı analitik metotların kullanıldığı dönüştürücü kısımda kullanılan tekniğe göre de sınıflandırılabilir. Bu açıdan bakıldığında, elektrokimyasal teknikler ile algılayıcı kısımda meydana gelen biyokimyasal olayları, ölçülebilir parametrelere dönüştüren biyosensörlere “Elektrokimyasal Biyosensörler” denilmektedir.

IUPAC’ın 1999 yılında yayınladığı rapora göre Biyosensörler biyolojik spesifikliğine, mekanizmasına, sinyal iletim moduna ve görüntülenen analit ya da reaksiyona göre sınıflandırılabilir. (Thevenot et al., 1999).

Elektrokimyasal Biyosensörlerin bir türü olan “Elektrokimyasal Nükleik Asit Biyosensör”leri, doğal veya sentetik nükleik asit dizilerinden oluşan biyolojik tanıma yüzeyleri ile fizikokimyasal dönüştürücünün birleşmesinden oluşmaktadır. (Erdem, 2007; Erdem and Ozsoz, 2011; Erdem et al., 2012 (b);Labuda et al., 2010).

Nükleik asit biyosensörlerini diğer biyosensörlerden bir adım öne taşıyan nokta daha yüksek spesifiklik ve seçiciliğe sahip olmasına olanak tanıyan mekanizma, DNA ipliklerinin yüksek biyoaffinitesine dayanmaktadır (Erdem, 2007; Erdem and Ozsoz, 2011; Erdem et al., 2012 (b); Labuda et al., 2010).

Elektrokimyasal açıdan bakıldığında nükleik asit biyosensörler ile yapılan analizlerde voltametrik ve kronopotansiyometrik metotların sıklıkla kullanıldığı görülmektedir (Paleček et al., 2005). Elektrokimyasal empedans spektrometrisi de bu grup sensörlerde kullanılan bir başka tayin tekniğidir (Katz et al., 2004). Elektrokimyasal yöntemler pratik, hızlı, kompakt ve düşük maliyetli oluşları ile dikkat çekmekte, klinik araştırmalar, çevresel analizler ve ilaç araştırmaları gibi çok farklı alanlarda araştırma yapma imkânı sunmaktadır (Arora et al., 2007, Sheng, et al 2009).

2000 yılında başlatılan İnsan Genomu Projesi ile birlikte, insan vücudu, metabolizması, genetiği ve genetik bilgilerin işleniş mekanizmaları hakkında hızlı bir veri akışının başlamıştır. Bunun ardından ise elde edilen verilerin seri, pratik ve ekonomik bir biçimde kullanılabilir bilgilere dönüştürülme gereksinimi doğmuştur. DNA biyosensörleri ise bu noktada devreye girerek, çözümlenen DNA dizilerinin mekanizmalarının anlaşılmasında, işlevleri belli olan DNA dizilerinin günlük hayatta kullanılabilir hale getirilmesinde görev almıştır (Wang, 2000, 2002; Christopoulos, 1999; Mandong et al., 2007; Erdem, 2007 (b); Erdem and Ozsoz, 2011).

Bu gelişmekte olan analiz tekniği, genetik hastalıkların ve bir takım enfeksiyonların tayininde, sentetik veya doğal moleküllerin biyolojik moleküllerle etkileşimlerinin incelenmesinde, gıda güvenliği analizlerinde veya çevresel etmenlerin görüntülenmesinde, jel elektroforezi veya membran işaretleme gibi klasik moleküler analiz metotlarına kıyasla daha hızlı, pratik, düşük maliyetli analizine imkan tanımaktadır (Wang, 2002) Tüm bu avantajların yanı sıra elektrokimyasal DNA biyosensörleri, çok daha yüksek seçiciliğe ve hassasiyete sahip olmaları ile DNA çalışmalarında büyük önem arz etmektedir (Li et al., 2005 (a); Oliveira Brett et al., 1998; Marin et al., 1997; Zhou et al., 2005; Zhou et al., 2010; Kalanur et al., 2009; Shen et al., 2008; Mehdinia et al., 2008; Ravera et al., 2009; Tian et al., 2008; Wang et al., 2006 (a); Wang et al., 2006 (b); Erdem et al., 2005 (b); Erdem et al., 2001; Erdem et al., 2006 (a); Erdem, 2007 (a); Karadeniz et al., 2003; Piedade et al., 2002, Tuncer et al., 2012, Muti et al., 2012).

Elektrokimyasal DNA biyosensörleri ile yapılan analizleri kısaca iki kısımda incelemek mümkündür. Genetik hastalıkların teşhisi, virüs, bakteri gibi çeşitli organizmaların tayini gibi amaçlarla kullanılan “elektrokimyasal hibridizasyon analizleri” ilk grubu oluşturmaktadır (Karadeniz et al., 2008; Authier et al., 2001; Cai, H. et al., 2002; Palecek and Fojta, 2001; Wang, 2000). Bu tip analizlerde DNA hibridizasyonu, DNA üzerinde bulunan elektro aktif bazlar olan adenin ve guaninin elektrokimyasal sinyalindeki değişimin ölçülmesi ile direkt olarak tayin edilebileceği gibi, DNA’nın tek veya çift sarmal yapıya seçimli bir şekilde bağlanan, etkileşime giren moleküllerin sinyalinden yola çıkarak dolaylı bir biçimde de analiz edilebilir (Erdem et al., 2000; Wang et al., 2001; Erdem et al., 2004; Gooding, 2002; Wang, 2002). DNA ile etkileşime giren ilaç, toksin, protein vb. moleküllerin, DNA üzerinde yarattığı etki üzerinden veya söz konusu molekülün yapısında meydana gelen değişiklikler üzerinden yapılan analizler ise “madde-DNA etkileşimleri” adı altında diğer grubu oluşturmaktadır. DNA hedefli ilaçlar, endüstriyel atıklardan kaynaklı toksinlerin bazıları, metabolizmadaki bazı proteinler, DNA ile farklı şekillerde etkileşime girerler. Etkileşimin türüne bağlı olarak, DNA üzerindeki elektro aktif bazların sinyallerinde veya varsa molekülün kendi sinyalinde bir takım değişiklikler meydana gelir. Bu değişikliklerin elektrokimyasal teknikler ile tespit edilmesi de elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin önemli bir çalışma alanını oluşturmaktadır (Palecek et al., 1998; Q. Shen et al., 2008; Erdem et al., 2002; Catalan et al., 2010; Dogan-Topal and Ozkan, 2011; Bian et al., 2011).

DNA hedefli bu tip moleküller içerisinde, özellikle anti kanser ajanlarını içeren ilaç gruplarının DNA ile olan etkileşimi, eczacılık, kimya, biyokimya ve moleküler biyoloji gibi birçok farklı alan için önemli bir konudur. Elektrokimya, bu etkileşimlerin incelenmesinde kullanılan metotlar içinde sıklıkla tercih edilen tekniklerin başında gelmektedir (Palecek et al., 1998; Erdem and Ozsoz, 2002; Catalan et al., 2010). İlaç-DNA etkileşimlerinde sıklıkla kullanılan elektrokimyasal teknikler ise dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV), kara dalga voltametrisi (SWV) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) teknikleridir (Jelen et al., 2002; Erdem et al., 2009; Yapasan et al., 2010; Karadeniz et al., 2007). Madde DNA etkileşimlerinde, hedef molekülün DNA ile kurduğu kimyasal bağ, çalışmada kullanılan metoda bağlı olarak; DNA üzerinde bulunan elektro aktif bazlardan birinin veya hedef maddenin, elektrokimyasal sinyalinde meydana gelen artış veya azalışın tespit edilmesi ile tayin edilir. Bu amaçla yukarıda bahsedilen farklı yöntemlerin yanı sıra, camı karbon elektrotlar (GCE), karbon pastası elektrotlar (CPE), kalem

grafit elektrotlar (PGE), perde baskılı karbon (SCPE) ve perde baskılı altın elektrotlar (Au-SCPE), altın elektrotlar (AuE) ve asılı civa damla elektrodu (HMDE) gibi farklı elektrotlar da kullanılmaktadır (Erdem and Ozsoz, 2001; Ravera et al., 2009; Zhou et al., 2005; Luo et al., 2005; Brett et al., 1998; Chiti et al., 2001; Marazza et al., 1999; Marin et al., 1998; Mascini, 2001; Millan et al., 1992).

Karbon nanotüpler, (CNT) 1991 yılında keşfedilmelerinin ardından, eşsiz özellikleri nedeniyle birçok alanda kendine yer edinmiştir (Iijima, 1991). CNT, sahip olduğu yüksek elektronik özellikleri ve iletkenliği ile elektrokimyasal sensör teknolojileri alanında da kendine yer bulmuştur. Bu özelliklerin başında, CNT'nin elektron transfer reaksiyon hızını artırıcı etkisi gelir. CNT, elektrot modifikasyonu sonrasında; sensör yüzeyinde oluşan aşırı gerilimi düşürmek, elektrotun yanıt süresini kısaltmak, duyarlılığı arttırmak gibi bir çok amaçla kullanılmaktadır (Rivas et al., 2007; Agui et al., 2008; Qian and Yang 2006; Wang, 2005; Erdem, 2007 (a); Erdem et al., 2009). Gerek CNT, gerekse diğer nano moleküller hakkında elde edilen yeni bilgiler ışığında, son yıllarda sensör yüzeylerinin bu tip malzemeler ile modifikasyonu, analiz yöntemlerinin iyileştirilmesine olanak tanıyan önemli gelişmelerdendir. Elektrot yüzeylerinin CNT veya CNT - polimer karışımları ile modifiye edilmesi ise bu alanda ortaya atılan umut vaadedici bir başka yaklaşımdır. Tüm bu modifikasyon denemeleri, DNA biyosensörlerinin gelişmesine, sensör seçiciliği ve hassasiyetini arttırılmasına olanak tanımıştır (Wang, 2002; Wang, 2005; Erdem et al., 2006; Erdem, 2007 (b); Muti et al., 2011).

CNT'lerin çeşitli yüzey aktif maddeler içinde çözülerek kullanılması, hidrofilik gruplarında spesifik olamayan kovalent bağlar kurmasına ve buna bağlı olarak elektronik ve fizikokimyasal özelliklerinin değişmesine neden olmaktadır. Bunun yanı sıra yüzey aktif madde içinde çözünen CNT'nin genellikle biyomoleküllere zarar verdiğinin bilinmesi nedeni ile de biyolojik çalışmalarda bu şekilde kullanılmaya uygun değildir. Ancak bu yüzey aktif maddeler yerine çeşitli polimerlerin kullanılması, tüm bu dezavantajları elimine etmektedir (Li et al., 2005 (b); Sun et al., 2010). Elektrot yüzeyinin polimerle modifiye edilmesinin, aynı zamanda hedef molekülün tanınmasını da kolaylaştırdığı, yüzey özelliklerinin daha kolay kontrol edilmesini ve modifiye edilebilmesini sağladığı görülmüştür (Pingarron et al., 2008; Vural et al., 2010).

Kitosan, β -1,4 bağları ile birbirine bağlanmış primer aminlerden oluşan, biyolojik bir polisakkarit, katyonik bir makromoleküldür (Qian and Yang, 2006). Yengeç, karides ve kerevit gibi deniz kabuklularından elde edilen kitosan, kitinin kısmi deasetilasyonu ile elde edilmektedir. Yüksek molekül ağırlıklı zincirli lineer poliglikozamin yapısında, reaktif amino asitler ve hidroksil gruplarını aynı anda bulundurması nedeni ile bu molekül oldukça farklı kimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptir (H. Yi et al., 2005; Ghicai et al., 2009). Doğal, biyouyumlu ve biyo-bozunur olan kitosanın aynı zamanda yüksek mekanik strese dayanıklılığı ile bilinmektedir. Sahip olduğu özellikler nedeni ile kitosan biyofilmlerin oluşturulması veya enzim gibi biyolojik moleküllerin immobilizasyonunda kullanılabilecek matrikslerin oluşturulması için çok elverişlidir (Oliveira and Vieira, 2006).

Mitomisin C (MC) oldukça geniş bir alandaki solid tümörlere karşı etkili anti-tümör bir antibiyotiktir. MC *Streptomyces caespitosus*'dan izole edilmiş ve mide kanserleri, kolon kanseri, göğüs kanseri, bazı akciğer kanserleri, baş ve boyun kanserleri, küçük mesane papillomları, pankreas kanseri ve serviks kanseri gibi birçok kanser türünün tedavisinde kullanılmıştır (Danshiitsoodol et al., 2006). MC, alkalleyici ajan olarak görev yaparak DNA'ya tutunur ve çift sarmalı çapraz olarak birbirine bağlayarak DNA sentezini önler. DNA ile etkileştikten sonra MC indirgenir ve bu reaksiyonu takiben iki adet N-alkalizasyonu görülür. Ancak MC'nin bu özelliğinin, aynı zamanda sitotoksik etki yarattığı da bilinmektedir. (Tomasz, 1995; Rauf et al., 2005; Karadeniz et al., 2007). Karadeniz ve arkadaşları MC ve DNA etkileşimini ilaç salınım mekanizması içinde tek kullanımlık kalem grafit elektrot kullanarak, MC'nin çift sarmal DNA üzerindeki etkisini elektrokimyasal olarak incelemiştir (Karadeniz et al., 2007). Perez ve arkadaşları ise, civa damla elektrot kullandıkları çalışmalarında, yüzeye immobilize edilmiş DNA ile elektrokimyasal olarak indirgenmiş MC'nin etkileşimi ile asit ile aktive edilmiş MC'nin etkileşimini kıyaslamıştır (Perez et al., 1999).

Çalışmamızda ilaç DNA etkileşimini incelemek amacı ile farklı elektrokimyasal DNA biyosensörü tasarımları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, yüzeyi farklı malzemeler ile modifiye edilmiş PGE yüzeyinde hedef ilaç olarak seçilen MC ile çift sarmal DNA (dsDNA) etkileşimi elektrokimyasal olarak incelenmiştir. Çalışma süresince ilaç ve DNA konsantrasyonunun, etkileşim süresinin yanıtı olan etkileri araştırılmış, optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Etkileşimin tayini; MC'nin elektrokimyasal sinyalinin ölçülmesinin yanı sıra

benzer bir yaklaşımla DNA’da bulunan elektroaktif bir baz olan guaninin sinyalinin büyüklüğünün, etkileşim öncesi ve sonrasında ayrı ayrı DPV tekniği ile ölçülmesi ile de incelenmiştir.

İlaç - DNA etkileşiminin incelendiği çalışmamızın ilk bölümünde, PGE yüzeyi, tek duvarlı karbon nanotüp/polivinilferrosen (CNT/PVF) karışımı ile modifiye edilmiştir. CV, DPV ve EIS teknikleri ile elektrokimyasal karakterizasyonu yapılan elektrot, ardından MC - DNA etkileşiminin tayininde kullanılmıştır. Bu amaçla DNA’nın CNT/PVF modifiye elektrot yüzeyindeki elektrokimyasal özellikleri, MC yokluğunda ve varlığında ayrı ayrı incelenip, guanine ait elektrokimyasal yükseltgenme sinyalleri etkileşim öncesi ve sonrasında kaydedilmiştir. MC’nin DNA’da mevcut olan guanin-sitozin bölgesindeki özellikle guanin bazına 7 pozisyonundaki azot (N7) atomu üzerinden bağlandığı bilinmektedir (Rauf et al., 2005; Karadeniz et al., 2007). MC bu özelliği sebebi ile guanine bağlanarak onun yükseltgenme sinyalinde değişikliğe neden olmaktadır. Çalışmamız bu değişikliğin ölçülmesine dayanmaktadır ve yapılan ölçümler sonucunda, etkileşim sonrasında guanin sinyalinde azalma gözlemlenmiştir.

Çalışmamızın ikinci kısmında ise Kitosan/tek Duvarlı Karbon Nanotüp karışımından oluşan nanopolimerik kompozit yapısı, (Kitosan/CNT) PGE yüzeyinin modifikasyonunda ve MC’nin DNA ile etkileşiminin tayininde kullanılmıştır. Gerek yalnızca kitosan, gerekse Kitosan/CNT ile modifiye edilmiş yüzeylerin yüzey karakterizasyonu, taramalı Elektron Mikroskopuyla (SEM) ve elektrokimyasal karakterizasyonu ise EIS tekniği ile gerçekleştirildi. Bir önceki çalışmaya ek olarak, DNA’da bulunan guanin bazının yanı sıra MC’nin yükseltgenme sinyali de etkileşim öncesinde ve sonrasında DPV tekniği ile görüntülenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, etkileşim sonucunda hem guanin hem de MC’ye ait yükseltgenme sinyallerinde azalmalar saptanmıştır. EIS tekniği elektrot karakterizasyonunun yanı sıra etkileşimin tayini amacıyla da kullanılmıştır. Elde edilen DPV ve EIS sonuçlarının birbiri ile uyum içinde olduğu gözlemlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Elektrokimya

Elektrokimya maddenin elektrik enerjisi ile etkileşimini, bu etkileşim sonucu oluşan bir takım kimyasal tepkimeleri ve meydana gelen fiziksel değişimleri inceleyen bilim dalıdır (Skoog et al., 1996). Elektrokimyasal tepkimeler; “elektrokimyasal hücre” adı verilen sistemler içerisinde elektron transferlerinin gerçekleştiği, yükseltgenme-indirgenme türü tepkimelerdir.

Elektroanalitik kimya, analiz çözeltisinin elektrokimyasal özelliklerine dayanan tüm kalitatif ve kantitatif yöntemleri kapsamaktadır. Elektroanalitik metotlar ile elektrot ara yüzeyinde veya çözelti içinde meydana gelen yük aktarımının stokiometrisi ve hızı; kütle aktarım hızı, adsorpsiyon derecesi, kimyasal tepkimelerin hızı ve denge sabitleri gibi bilgilere ulaşılabilir (Skoog et al., 1996). Elektroanalitik teknikler çok düşük tayin sınırlarına ulaşabilmeleri ve elektrokimyasal sistemler hakkında ayrıntılı bilgi vermeleri nedeni ile analitik kimya için önemli tekniklerdir. Elektroanalitik yöntemler üç grupta toplanabilir:

1. Çözeltinin konsantrasyonu ile ilintili olarak değişen potansiyel, akım, direnç (veya iletkenlik), kapasitans veya elektrik miktarı gibi herhangi bir elektrik parametresi arasındaki doğrudan ilişkiyi inceleyen yöntemler.
2. Bir titrasyonun eşdeğerlik noktasının elektrik parametrelerinden birine göre saptanmasına dayanan yöntemler.
3. Bir elektrik akımı ile çözeltideki maddenin tartılabilir bir şekle dönüştürülerek ayrılmasına dayanan yöntemler (Beşergil, 2002).

Elektrokimyasal hücre içerisinde indirgenmenin olduğu elektroda **Katod** yükseltgenmenin olduğu elektroda **Anot** denir. Etkileşim sonrası açığa çıkan elektronların iletilmesi sonucu elektrokimyasal hücrede elektrik akımı oluşmaktadır. Bu elektrik akımının iletilmesinde metallerde metalik iletkenlik çözeltilerde ise iyonik iletkenlik söz konusudur.

Elektrik akımının birimi olan amper birim zamanda (sn) elektrik yük miktarı, **culomb** olarak tanımlanır. Elektrik akımının sağlanması için gerekli olan 2 nokta arasındaki gerilim (potansiyel) (E) farkının birimi ise **volt**tur.

Bir elektrokimyasal hücrede 2 elektrot birleştirildiğinde bir kimyasal reaksiyon oluşuyor ve akım geçiyorsa böyle hücrelere **Galvani Hücresi** denir. Dıştan elektrik enerjisi verilmek suretiyle kimyasal reaksiyon oluşuyorsa **elektrolitik hücre** ve olaya da **elektroliz** denir.

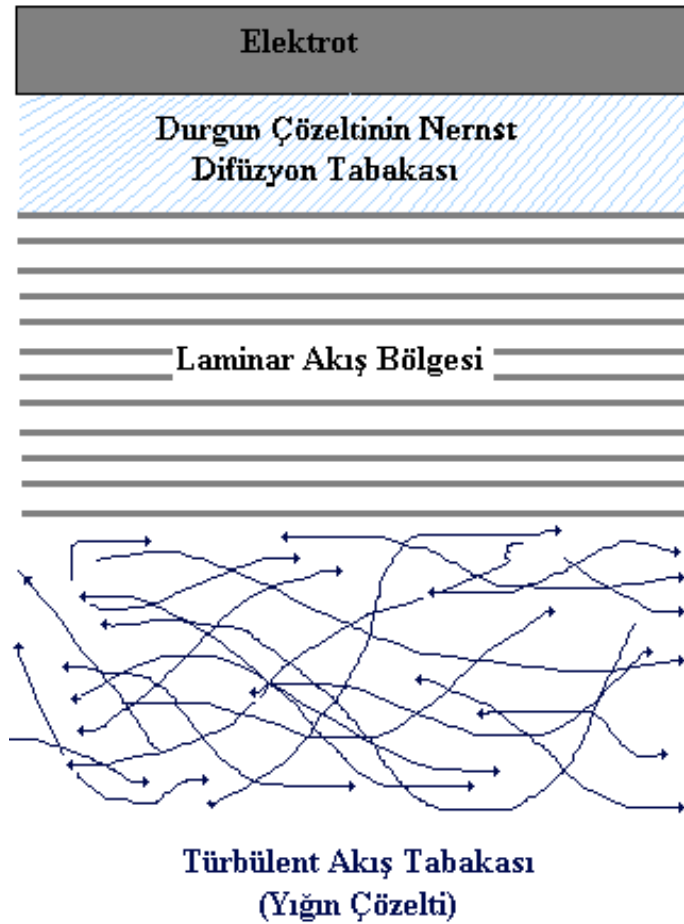
Elektrokimyasal yöntemler, alternatif metotlara kıyasla birçok avantaja sahiptir. Analiz metodunun hedef analite spesifik olması bunlardan en önemlisidir. Bu sayede çok daha seçici tayin imkanı sunmaktadır. Pratik, hızlı, kompakt ve düşük maliyetli oluşları ve yüksek hassasiyette analize imkan tanımaları diğer özelliklerindendir (Arora et al., 2007; Skoog et al., 1996; Ariksoysal et al., 2005; Bauer et al., 2004; Bej, 1996; Brabec, 1983; Brabec and Koudelka, 1980).

Elektrokimyasal sistemden söz edilebilmesi için; elektrokimyasal açıdan yorumlanacak maddeyi içeren iletken bir çözelti (tampon çözelti) , sistemden geçen elektrik akımına bağlı olarak meydana gelen kimyasal tepkimelerin gerçekleşeceği elektrot sistemi (genellikle üçlü elektrot sistemi) ve bu elektrotları birbirine bağlayacak bir çevirim sistemi (transducer) gereklidir.

Çeşitli elektrolitik yöntemler ile kullanılan farklı akımlar sayesinde (doğru akım (DC), diferansiyel puls (DPV), dönüşümlü voltametri (CV) vb.) belirli potansiyel aralıkta tarama yapılarak meydana gelen akım şiddeti ölçülür. Elektronların akışı difüzyona bağlı olarak gerçekleştiğinden burada ölçülen difüzyon akımıdır. Difüzyon, elektrot yüzeyinin yakınındaki difüzyon tabakasında oluşur ve akımın şiddeti, difüzyon hızı ile doğru orantılıdır

2.1.1 Elektrokimyasal tabakalar ve kütle aktarım yolları

Elektrokimyasal ölçüm esnasında, elektron alış verişinden kaynaklı elektrot yüzeyi ile analit çözelti arasında gözle görülemeyecek boyutta mikron düzeyde özel bir ara yüzey meydana gelmektedir. Elektrot yüzeyinden, analit çözeltinin elektrot yüzeyine en yakın noktasına verilen veya alınan bir elektron sayesinde elektron aktarımı gerçekleşmektedir. Bu alışveriş nedeni ile çözeltinin elektroda en yakın kısmında diğerlerinden farklı bir konsantrasyona sahip yeni bir tabaka oluşmaktadır (Yıldız ve Genç, 1993). Oluşan bu homojen ara yüzeyin şematik gösterimi Şekil 2.1'deki gibidir.

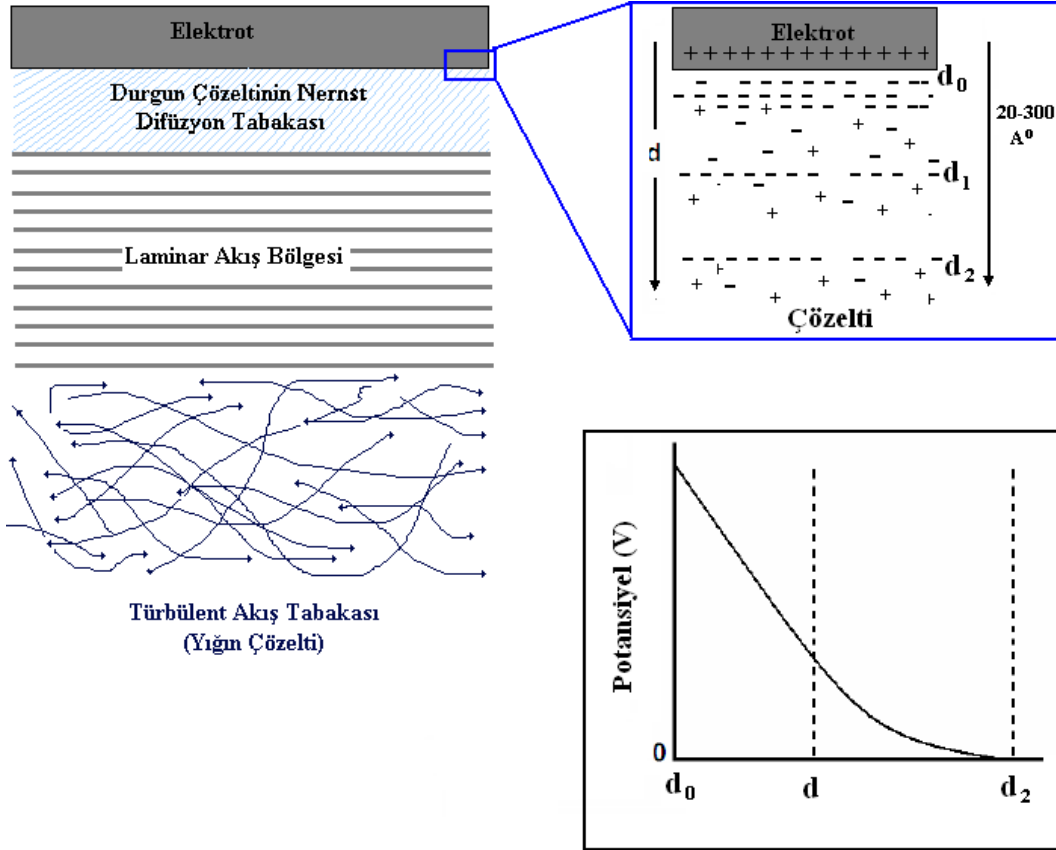


Şekil 2.1.Elektrot yüzeyindeki tabakaların şematik olarak gösterilmesi, (Yıldız ve Genç, 1993)

Elektrot çözelti ara yüzeyinde oluşan ve Şekil 2.1’de gösterilen tabakalardan “*Türbülent Akış Tabakası*” elektrottan uzak çözelti yığnında gözlenmektedir. Çözeltinin elektrot yüzeyine yakın bölgelerinde, difüzyon tabakasından önce “*Laminer Akış*”a geçiş bölgesi oluşur. Bu Laminer akış bölgesinde sıvı tabakalarının elektrot yüzeyine paralel bir yönde birbiri üzerinde kaydığı varsayılır. Elektrot yüzeyinde en yakın noktada çözelti ile elektrot arasındaki sürtünme sebebiyle yatay hız sıfıra yaklaşır ve bu sebeple “*Durgun Sıvı Tabakası*” oluşur. Bu durgun çözelti tabakası $10^{-2} - 10^{-3}$ cm kalınlığındadır.

Bu sistemde elektroda pozitif bir potansiyel uygulandığını varsayalım, eğer elektrot yüzeyinde reaksiyona girebilecek uygun bir tür yoksa, yüzeydeki yük hızla boşalacak ve anlık bir akım dalgasına sebep olacaktır. Bu dalga, çözelti içinde bulunan elektrotların yüzeyinde, yük miktarında büyük bir değişime neden olacak bir akımdır. Bu akıma “*Yükleme akımı*” denilmektedir. Bu ani yüklemeye bir tepki olarak elektrota en yakın noktadaki çözelti tabakasında ise bunun tam

tersi bir zıt yükleme oluşur. Burada açıklanan oluşum Şekil 2.2’de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.2. Elektrot yüzeyinde oluşan elektriksel çift tabaka, (Beşergil, 2002)

Elektrot yüzeyinde, uygulanan pozitif potansiyelin bir sonucu olarak pozitif yük fazlalığı oluşur. Bu yüklü çözelti tabakası iki kısımdan oluşmaktadır:

1- $d_0 - d_1$ arası (yoğun iç tabaka): Bu tabakada elektrot yüzeyinden uzaklaştıkça ortaya çıkan potansiyel, mesafe ile doğru orantılı olarak azalır.

2- $d_1 - d_2$ arası (difüze tabaka): Bu kısımda elektrot yüzeyinden uzaklaştıkça ortaya çıkan potansiyel üstel olarak azalmaktadır (Şekil-2b). Elektrot yüzeyindeki ve yüzeye yakın kısımlardaki bu yük topluluğu elektriksel çift tabaka olarak adlandırılır.

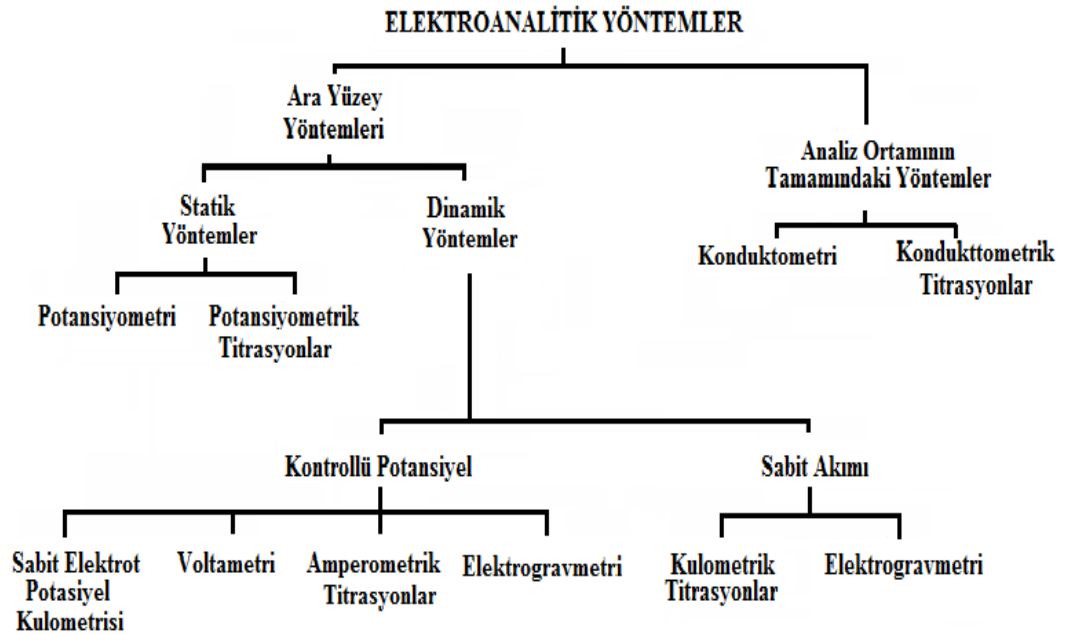
Elektrokimyasal ölçümlerin gerçekleştiği elektrokimyasal hücre içerisinde maddenin elektrot yüzeyine doğru olan hareketini sağlayan migrasyon, konveksiyon ve difüzyon olmak üzere üç temel mekanizma bulunmaktadır (Yıldız

ve Genç, 1993) Elektriksel alanın etkisi ile oluşan kütle aktarım yoluna **Migrasyon** denilmektedir. Katot ve anot arasında uygulanan gerilim farkı elektriksel bir alan oluşturur. İyonlar bu alan etkisiyle ters yüklü elektrotlara doğru göç ederler. İyonların elektriksel alandaki hareket hızları iyonun yüküne, büyüklüğüne ve çalışılan ortamdaki yönlenme biçimine bağlıdır.

Elektrokimyasal hücrede içerisinde derişim farkından kaynaklanan kütle aktarımına **Difüzyon**, çözeltinin karıştırılması veya titreşimler sonucunda oluşan kütle aktarımına ise **Konveksiyon** denilmektedir. Difüzyon, elektrot yüzeyinde bulunan film tabakası ile çözelti arasındaki konsantrasyon farklarından kaynaklanan ve kütle aktarımını teşvik eden mekanizmadır. Bir elektrokimyasal hücre içerisinde tercih edilen deneysel metoda bağlı olarak bunlardan bir tanesi veya birkaçı kütle aktarımının gerçekleşmesini sağlar.

2.1.2 Elektroanalitik yöntemler

Elektrokimyasal analizlerde kullanılan çeşitli elektroanalitik yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler içerisinde sıklıkla kullanılanlar aşağıdaki tabloda da gösterilmektedir. Kullanılan yöntemleri kabaca ara yüzeyde gerçekleşen yöntemler ve tüm analiz ortamında gerçekleşen yöntemler olarak ikiye ayırmak mümkündür.

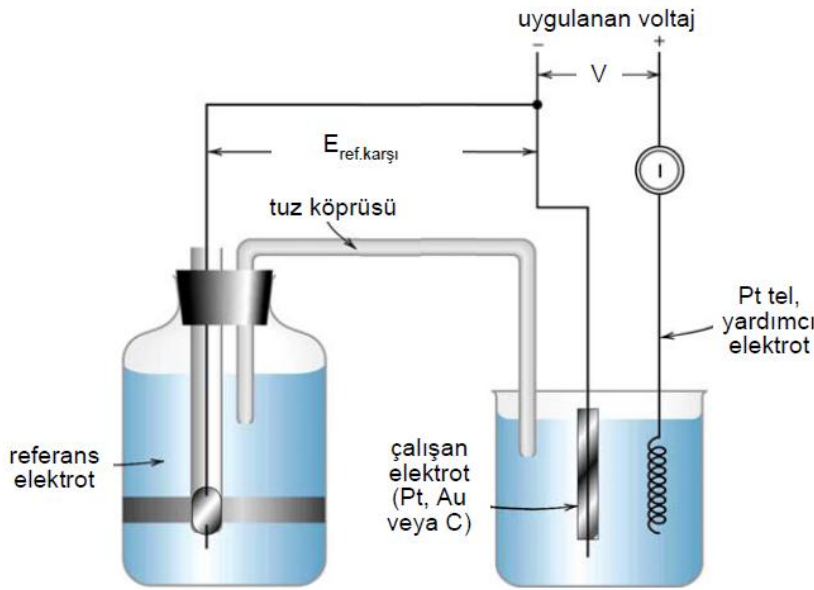


Şekil 2.3 Elektroanalitik yöntemler, (Yıldız ve Genç, 1993)

2.1.2.1 Voltametri ve esasları

Elektroda uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesine dayanan elektrokimyasal yönteme “voltametri” denir. Uygulanan gerilimin ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine “voltamogram” denir (Skoog et al., 1996). Voltametrinde, herhangi bir maddenin elektrokimyasal davranışını incelemek için elektroda uygulanabilecek gerilim aralığının sınırları, kullanılan çalışma elektrotunun ve kullanılan çözücü ve elektrolit türlerine bağlıdır. Voltametrinde  alışan elektrotların yüzey alanları küçüktür; yani, polarizasyonu artırıcı yönde etki yapar. Bu tip elektrotlara "mikroelektrotlar" denir (Beşergil, 2002).

1920’li yılların başında Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky’nin polografiyi bulması ile voltametri gelişmiştir (Skoog et al., 1996). Voltametrimin hala önemli bir kolu olan polarografinin diğer voltametrik tekniklerden en büyük farkı, çalışma elektrodu olarak bir damlayan cıva elektrotun (DCE) kullanılmasıdır.



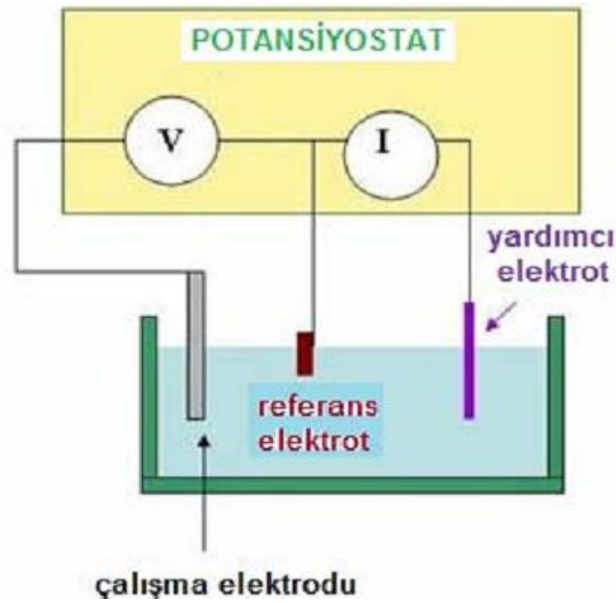
şekil 2.4. şematize edilmiş voltametrik hücre, (Yıldız ve Genç, 1993)

şekil 2.4.’te şematize edilen bir voltametrik ölçüm sisteminde; bir mikro çalışma elektrodu, bir referans elektrot ve bir yardımcı (karşıt) elektrot bulunmaktadır. Akım  alışma ve yardımcı elektrotlar arasından akarken çalışma ve referans elektrot arasındaki voltaj kaydedilir (Beşergil, 2002).

Voltametri günümüzde başta inorganik, fiziko ve biyokimyacılar olmak üzere farklı alanlarda yürütülen çalışmalarda çeşitli ortamlarda oluşan yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin incelenmesi, yüzeydeki adsorpsiyon işlemlerinin araştırılması ve kimyasal olarak modifiye edilmiş yüzeylerde gerçekleşen elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması gibi analitik olmayan amaçlar için de oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

2.1.2.2 Voltametrik cihazlar ve voltametrinde kullanılan uyarma sinyalleri

Voltametrik bir analizde kullanılan ölçüm sisteminin temelini, analiz edilecek maddeyi içeren tampon çözelti ile bu çözeltiye daldırılmış üç elektrottan meydana gelen elektrokimyasal hücre oluşturmaktadır. Bu üçlü elektrot sistemi üzerinden ölçüm süresince akım geçmektedir. Elektrokimyasal hücre bu akımı kontrol eden ve değişiklikleri kaydeden bir seri devre ve elektronik sisteme bağlıdır. Bu amaçla kullanılan ve elektrokimyasal hücrede bulunan çalışma elektroduna değişmeyen ya da belirli bir hızla değiştirilebilen potansiyeller sağlayan cihaza “potansiyostat” denilmektedir (Yıldız ve Genç, 1993),



Şekil 2.5. Üçlü elektrot sistemi ve potansiyostatın şematize edilmiş hali, (Yıldız ve Genç, 1993)

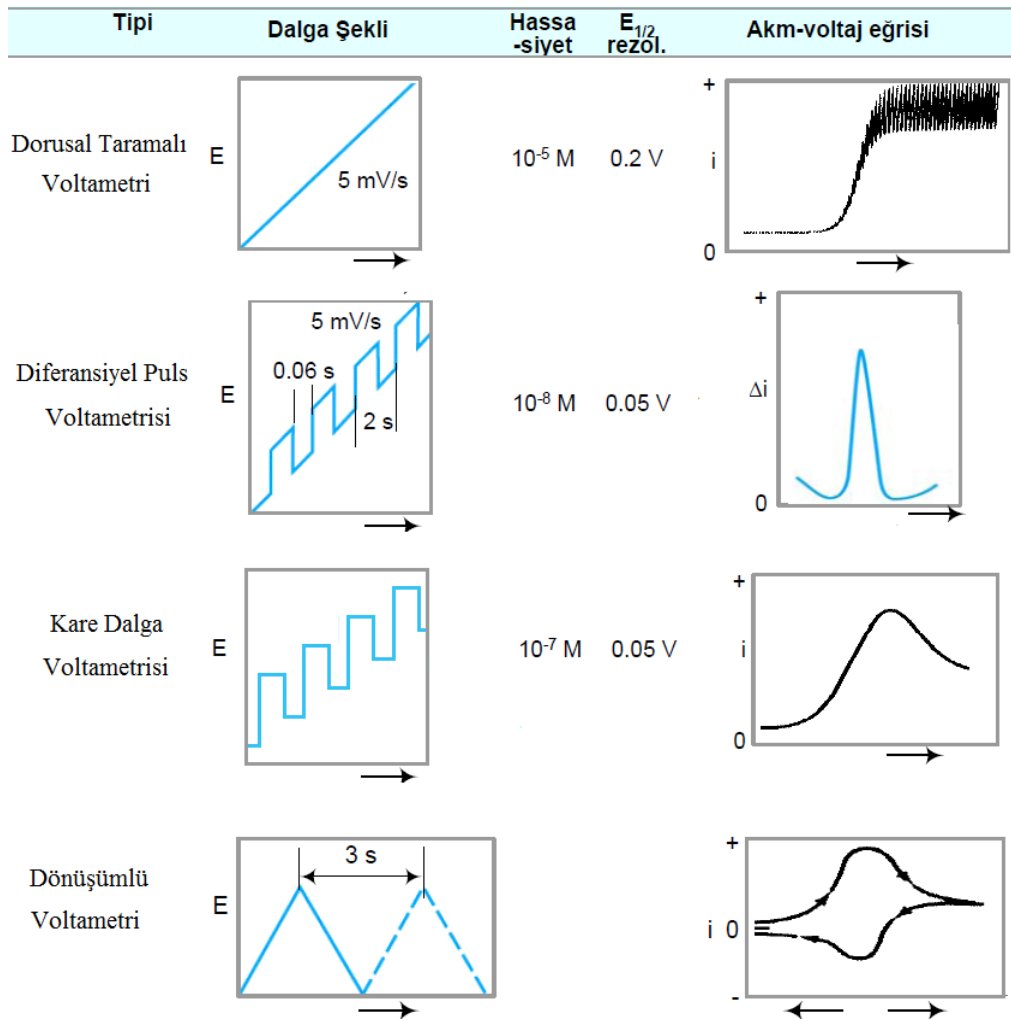
Şekil 2.5'te de görüldüğü gibi üçlü elektrot sistemi, sistemden akım geçmesini sağlayan ve meydana gelen değişimleri kaydeden potansiyostata bağlıdır. Potansiyostatın görevi çalışma elektroduna sabit veya sabit oranda değişen potansiyel uygulamak ve değişen potansiyele bağlı olarak sistemde oluşan

gerilim farkını ölçmektedir (Beşergil, 2002). Üçlü elektrot sistemi ise çalışma elektrodu, referans elektrot ve yardımcı elektrottan oluşmaktadır.

Çalışma elektrodu: Yüzeyinde analizlenecek maddenin yükseltgendiği veya indirgendiği elektrottur. Yapısı kullanılacağı çalışmanın amacına göre değişkenlik gösterebilir.

Referans elektrot: Referans elektrot, potansiyeli deney süresince sabit kalan bir elektrottur. Birçok referans elektrot bulunmasına rağmen Ag/AgCl referans elektrot ve doygun kalomel elektrot sıklıkla kullanılanlardır.

Yardımcı elektrot: Pt bir tel veya bir civa havuzu şeklinde olan ve elektriğin çözelti içinden çalışma elektrotuna aktarılmasını sağlayan karşıt elektrottur. Bu elektrot, çalışma elektrotu ile bir çift oluşturan, fakat ölçülen potansiyelin büyüklüğünün tayininde rol oynamayan bir elektrottur.



Şekil 2.6 Voltametri de kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri, (Beşergil, 2002)

Daha önce de bahsedildiği gibi potansiyostatın görevi üçlü elektrot sistemine sabit veya belirli bir oranla değişen potansiyellerde uyarı sinyalleri göndermektedir. Uygulanan her bir farklı tip potansiyele yanıt olarak sistemde karakteristik bir yanıt oluşmaktadır (Skoog et al., 1996). Voltametrde kullanılan belli başlı uyarma sinyalleri ve karşılığında oluşan karakteristik akımlar şekil 2.6’da gösterilmektedir.

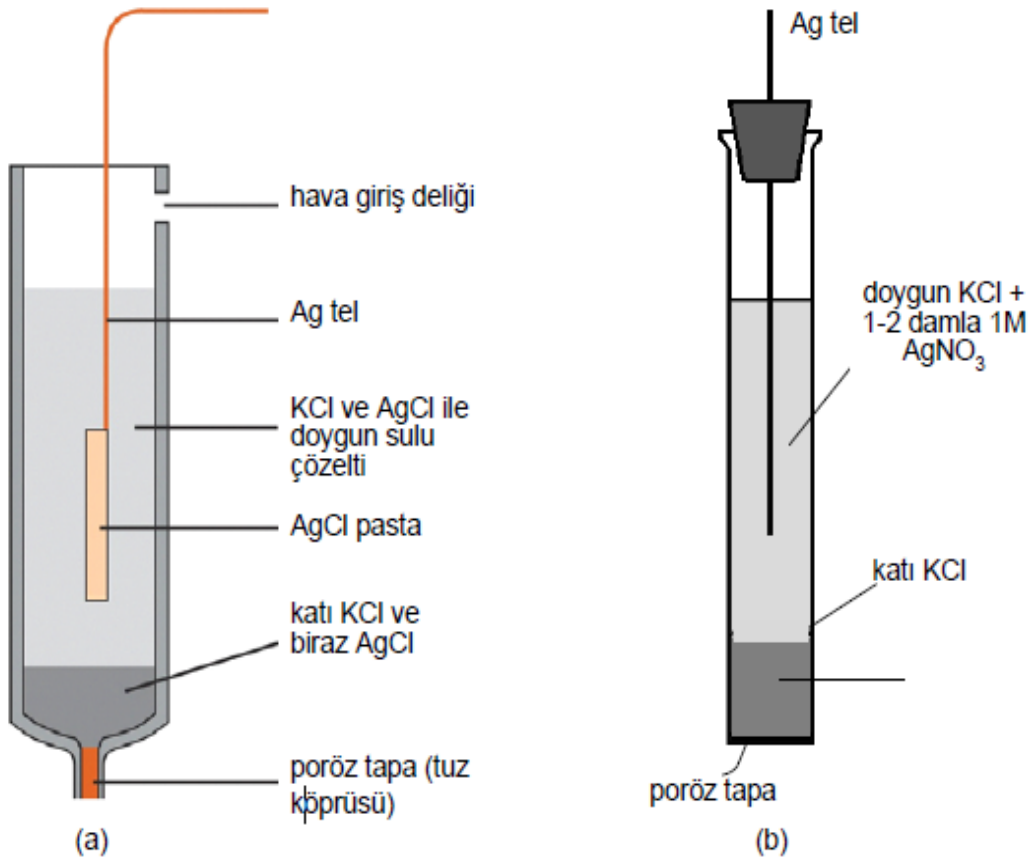
2.1.2.3 Voltametrde kullanılan referans ve çalışma elektrotları

Elektrokimyasal bir analizde, ortamdaki çözeltinin bileşiminden ya da dış ortamdan etkilenmeyen, yarı hüre potansiyeli bilinen ve değişmeyen bir elektrota ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla seçilen elektrotlara **Referans Elektrot** denir (Beşergil, 2002; Skoog et al., 1996; Evans, 1991; Pietrzyk and Frank, 1979; Yıldız ve Genç, 1993).

Elektrokimya da ilk olarak Standart Hidrojen Elektrot (SHE) referans elektrot olarak kullanılmıştır. Ancak SHE’nin hazırlanması zor olduğundan yeni referans elektrotlar arayışına gidilmiştir. Günümüzde kullanılan bilinen çeşitli referans elektrotlar şunlardır; Başta standart hidrojen elektrodu olmak üzere, kalomel elektrot ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$), Gümüş klorür elektrot (Ag/AgCl), Bakır sülfat elektrot (Cu/CuSO_4), Civa sülfat elektrot ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4$), Civa oksit elektrot (Hg/HgO), Gümüş sülfat elektrot ($\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{SO}_4$), Susuz Ortam Elektrodu.

En yaygın kullanılan referans elektrotlardan biri olan gümüş-gümüş klorür referans elektrot, gümüş klorür ile doymuş potasyum klorür çözeltisine daldırılmış gümüş bir telden oluşmaktadır (Beşergil, 2002). Doymuş KCl çözeltisi kullanıldığı zaman standart hidrojen elektroduna göre potansiyeli, +0,222 V dur. Gümüş klorür elektrotlar, ticari olarak bulunabildiği gibi laboratuvar koşullarında da yapılabilir.

Gümüş/gümüş klorür elektrotun yapısı Şekil 2.7’de görüldüğü gibidir. Bir ucunda poröz cam disk bulunan bir payreks tüp içerisine yerleştirilen gümüş telden oluşmaktadır. Cam diskin üzerine potasyum klorür ile doyurulmuş agar jel tıpa konularak sızıntı olması önlenmelidir. Elektrodu hazırlamak için jelin üstüne bir miktar katı potasyum klorür konur ve tüp doymuş potasyum klorür çözeltisi ile doldurulur. İçerisine bir iki damla 1 M gümüş nitrat çözeltisi damlatılır (Beşergil, 2002).



Şekil 2.7 Gümüş/gümüş klorür elektrot, (Beşergil, 2002)

Çalışma elektrodu, yüzeyinde analiz edilecek maddenin yükseltgendiği veya indirgendiği elektrottur. Yapısı kullanılacağı çalışmanın amacına göre değişkenlik gösterebilir ancak iletken olması esastır. Çalışma elektrotunun yapısında kullanılan iletken malzeme, platin ya da altın gibi inert bir metal; karbon, pirolitik grafit ya da camsı karbon; kalay oksit ya da indiyum oksit gibi yarı-iletken veya bir civa filmi ile kaplanmış bir metal olabilir. Kullanılacak çalışma elektrodu seçilirken çalışma elektrotunun potansiyel aralığının, analiz edilmek istenen maddenin elektrokimyasal sinyalinin bulunduğu yeri kapsayacak şekilde seçilmesine dikkat edilmelidir. Bunun yanı sıra elektrokimyasal hücre içerisinde bulunan tampon çözelti içeriği de göz önünde bulundurulmalıdır (Skoog et al., 1996).

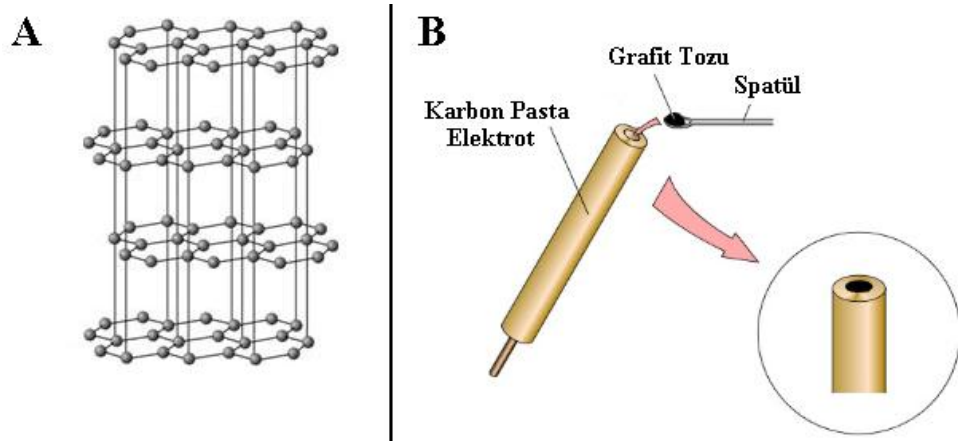
Başta civa damla elektrodu olmak üzere, voltametrik tekniklerde kullanılan çok çeşitli çalışma elektrotları bulunmaktadır. Oksijen elektrodu, döner platin elektrot, membran elektrotlar, altın, gümüş, paslanmaz çelik ve platin gibi metal

elektrotlar, camımsı karbon, karbon pastası ve kalem grafit elektrot gibi karbon bazlı elektrotlar bunlardandır (Beşergil, 2002).

Kullanılan bu elektrotlar için her birinin farklı avantajları bulunmaktadır. Örneğin, metal elektrotlar yüksek elektron transfer kinetiklerine ve geniş bir pozitif potansiyel aralığına sahiptirler. Membran elektrotlar ise seçici geçirgen yapıları sayesinde daha kompleks ortamlarda saha seçici analiz yapma imkanı tanımaktadır.

Karbon elektrotlar özellikle ekonomik olmaları, geniş potansiyel aralığında çalışma imkanı sunmaları, kolay hazırlana bilirlilikleri ve karbonun kimyasal yapısından kaynaklanan yüksek yüzey aktivitesi sayesinde istenen maddenin kolayca yüzeye tutturulabilmesi gibi birçok avantajı bünyesinde bulundurmaktadır. Karbon pastası (CPE) ve camı karbon elektrot (GCE) uzun süredir çalışmalarda kullanılan elektrotlardır. Çalışmalarımızda kullanmış olduğumuz tek kullanımlık Kalem Grafit Elektrot (PGE) ise bu iki elektrotun özelliklerinin yanı sıra kolay uygulanabilirliği ile bir adım öne geçmektedir.

Camsı karbon elektrot (GCE) grafitize karbon yerine fenol/formaldehit polimerlerinin veya poliakrilonitrilin 1000°C - 3000°C arasında basınç altında karbonizasyona uğratılması ile elde edilmektedir. Ticari olarak elektrot üretimine uygun olmamasına rağmen, çok iyi mekanik ve elektriksel özelliklere sahip olması ve geniş bir potansiyel aralığı olması, kimyasal tepkimelere girmemesi ve genellikle tekrarlanabilir yüzeyler sağlaması nedeniyle sıkça kullanılmaktadır.

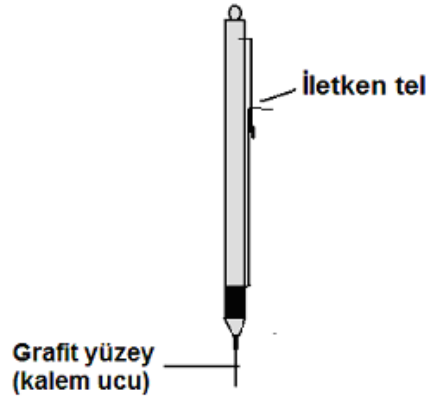


Şekil 2.8 Karbon Pastası Elektrotu

Karbon pastası elektrot (CPE) ise grafit tozunda bulunan karbon moleküllerinin düzlemsel ve aromatik halkalar halinde oluşturduğu tabakaların,

zayıf π bağları ile birbirine bağlanması ile oluşmaktadır (Şekil 2.8). CPE hazırlanırken grafit tozlarının bağlanması amacı ile Nujol (mineral yağ), parafin yağı, silikon yağı ve bromonaftalen gibi maddeler kullanılmaktadır. Hazırlanan bu karışıma pasta denmektedir ve pasta bileşiminin elektrot aktivitesinde büyük etkisi vardır. Bağlayıcı organik sıvı oranı arttıkça, elektron transfer hızı azalmaktadır. Bu elektrotun dezavantajı elektrot yapısındaki grafitin organik madde içeren bir çözeltiye daldırıldığı zaman dağılabilmesidir (Cai et al., 1996; Palecek, 1995; Richardson and Springfield, 1998).

Kalem Grafit Elektrotlar (PGE) elektrokimyasal sensörlere yeni bir bakış açısı getirerek araştırmaların daha hızlı ilerlemesine yardımcı olmuştur. Grafit kalem uçlarının elektrot olarak kullanılması sayesinde uzun ön hazırlık aşamalarından kurtulunmuş, fabrikasyon üretim uçlar sayesinde sürekli aynı nitelikte yüzeyler elde edilmesine olanak tanınmıştır. Bunların yanı sıra karbon elektrotların getirdiği tüm avantajları da bulundurması nedeni ile çalışmamızda bu elektrotlar kullanılmıştır (Karadeniz et al., 2003; Wang et al., 2001; Erdem, 2006; Kuralay et al., 2009; Erdem, 2007; Erdem, 2012).



Şekil 2.9 Kalem Grafit Elektrot

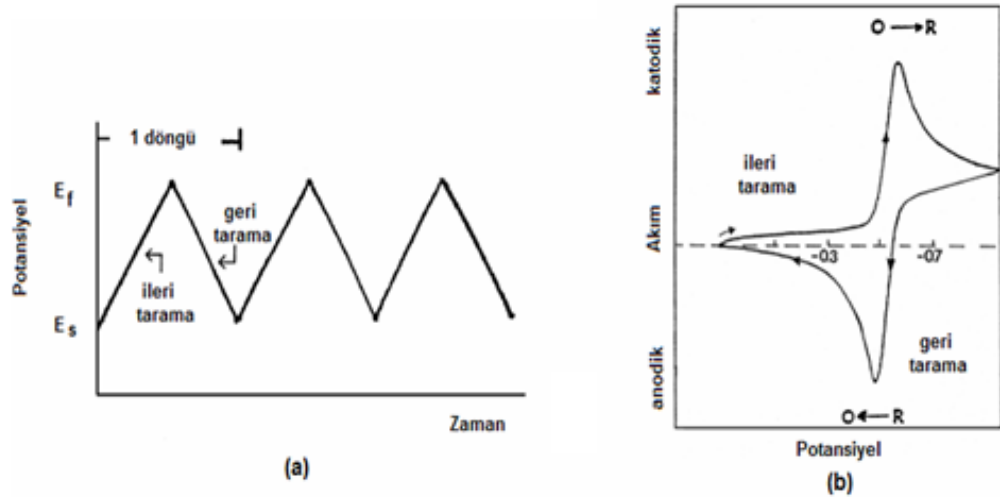
2.1.2.4 Voltametrik teknikler

Voltametrik tekniklerde, kimyasal etkileşimler sonucu elektrokimyasal hücre içerisinde bir takım iyonlar, elektronlar ortaya çıkmaktadır. Bu elektronların tampon çözelti içindeki hareketleri sonucu hücrede elektrik akımı oluşur. Sistemde oluşan gerilimin bir fonksiyonu olarak ölçülen akımın birimi ise amperdir. Kullanılan farklı uyarma sinyallerine bağlı olarak, zaman içinde farklı

elektrokimyasal teknikler geliştirilmiştir. Doğrusal taramalı voltametri, kare dalga voltametri, dönüşümlü voltametri ve diferansiyel voltametri bunlardandır.

2.1.2.5 Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri (CV), reaksiyon mekanizmaları ve yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarının incelenmesinde kullanılabilen çok önemli bir cihazdır. CV tekniğinde sistemde değişen potansiyel değerine karşı belli aralıklarda ölçülen akımın grafiği çizilmektedir. Potansiyel başlangıç noktasından daha önceden belirlenen bir maksimum noktasına dek doğrusal olarak artar ve daha sonra başlangıç değerine yine doğrusal olarak geri döner. Bu tip bir sistemde elektron aktarım hızı, çalışma elektrodu yüzeyindeki difüzyon hızına bağlıdır (Şekil 2.10) .

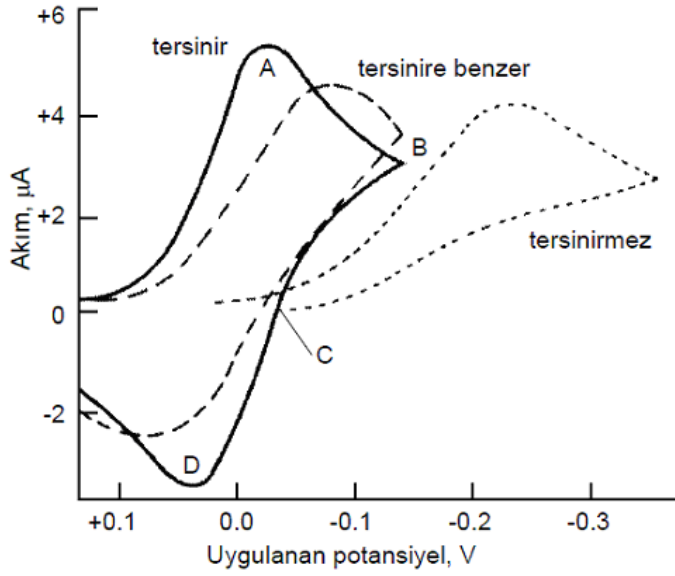


Şekil 2.10 Dönüşümlü voltametri de elektroda uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği (a) ve elde edilen akım-gerilim eğrisi (b).

Bu teknik miktar tayinleri için elverişli değildir, ancak hem indirgenme hem de yükseltgenme yönünde tarama yaptığı için özellikle yeni çalışılan bir madde ise söz konusu maddenin elektrokimyasal karakterizasyonunun yapılmasında, hangi potansiyelde nasıl davranılacağına belirlenmesinde kullanılabilecek en uygun yöntemdir. Duyarlılığı 10^{-5} M kadardır. Başlangıç ve bitiş potansiyellerinin yanı sıra, tarama hızı ve kaç defa tarama yapılacağı da müdahale edilebilecek parametreler arasındadır. Bir dönüşümlü voltamogramdaki indirgenme ve yükseltgenme arasındaki gerilim farkı ΔE_p ile ifade edilir ve aşağıdaki gibidir;

$$\Delta E_p = \frac{57}{n} mV$$

ΔE_p bu değere ne kadar yakın ise, tepkime reversible (tersinir); ne kadar uzaksa irreversible (tersinmez) olarak adlandırılır.



Şekil 2.11 Dönüşümlü voltametri farklı voltamogramlar

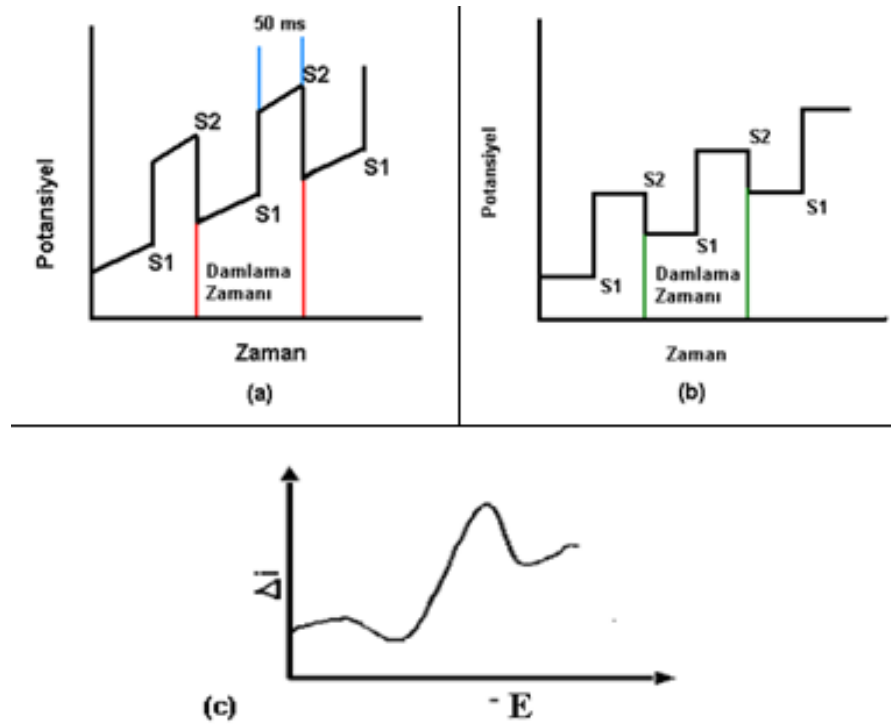
Şekil 2.11’de üç farklı voltamogram görülmektedir. Kesiksiz eğri tersinir bir reaksiyona aittir. Voltamogramda katodik A noktasına gelinene dek taramalı polografi benzeri bir eğilim göstermektedir. B noktasında potansiyel tersine çevrildiğinde akım pozitif kalır; bunun nedeni, çoğunlukla, analitin difüzyon kontrollü indirgenmesidir. Artık analit indirgenemeyecek duruma geldiğinde C potansiyeline ulaşılır; burada akım sıfırdır. Potansiyelde daha fazla pozitif değerlere gidildiğinde, önceden indirgenmiş olan tanecikler yükseltgenmeye başlar ve bu olay konsantrasyon sıfır oluncaya kadar devam eder. Sonuçta anodik D piki oluşur. Elektrot potansiyeli daha yavaş olursa veya daha az dönüşümlü ise, potansiyel farkı büyür ve Şekil-19’daki noktalı eğrilere benzer eğriler elde edilir (Beşergil, 2002).

2.1.2.6 Diferansiyel puls voltametri

Diferansiyel puls voltametri (DPV) 10^{-7} ile 10^{-8} M gibi oldukça yüksek duyarlılığa sahiptir. Temel olarak sisteme uygulanan potansiyel belli zaman

aralıklarında sabit miktarda darbeler şeklinde (örneğin 10 mV'luk veya 30 mV'luk) uygulanır ve buna karşılık gelen akım ölçülerek akım potansiyel eğrisi oluşturulur. Darbe uygulanmadan önce ve sonra iki defa ölçüm yapılır. Her bir darbe için elde edilen bu iki ölçümün farkı kullanılır. Voltamogramda oluşan potansiyel artışları konsantrasyona bağlı artışlardır.

Ancak analiz ortamında belli bir potansiyelde yükseltgenen veya indirgenen türler var ise sürekli artan doğrusal grafikten farklı olarak, voltamogramda o maddeye özgün potansiyelde eğri pik gözlemlenir. Elde edilen bu pikin yüksekliğinden söz konusu maddenin konsantrasyonu hakkında bilgi edinilebilir.



Şekil 2.12 Diferansiyel puls voltametrisi için uyarma sinyalleri

Puls polarografinin yüksek hassasiyeti iki nedene dayanmaktadır. Bunlardan ilki bu sistem sayesinde faradaik akımdaki artış ikincisi ise faradaik olmayan akımdaki azalmadır. Şekil 2.12’de görüldüğü gibi puls başında ve sonunda (Şekil 2.12 (a) Analog cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali (b) Dijital cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali (c) Diferansiyel puls voltametrisinde elde edilen bir voltamogram).

2.1.2.7 Elektrokimyasal empedans spektroskopisi

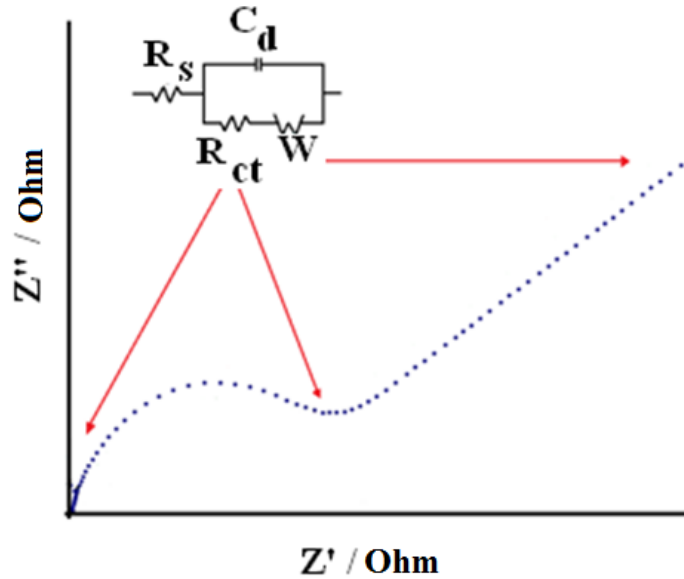
Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) sensor yüzeylerinde kullanılan malzemenin ve malzeme yüzeyinin elektriksel özelliklerinin karakterizasyonunda kullanılan yeni ve oldukça etkinli bir metottur. EIS tekniği ile elektrot yüzeyinde oluşan bir takım bağların dinamikleri araştırılmasında kullanılabilir. Bunun yanı sıra baskı çözelti içindeki veya her türlü katı - sıvı ara yüzeyindeki elektriksel şarjın araştırılması için de kullanılabilir. Çoğunlukla amorf, polikristal ya da kristal yapıdaki katılar ile yarı iletken, iyonik, elektronik iyonik karışımı sıvı ara yüzeylerinden bahsedilmesine rağmen; tuzlar ve sulu elektrolitlerin sıvı-metal yüzeyler ve yüksek molariteli sıvı elektrolitler ile oluşturdukları ara yüzeylerde bu yöntem ile incelenebilmektedir (Barsoukov and MacDonald; 2005).

EIS tekniği ile gerçekleştirilen elektrolitin veya elektrotun elektrokimyasal davranışını tayin etmeye yönelik çalışmalar çoğunlukla elektrokimyasal hücre içerisinde, üçlü elektrot sistemi yardımı ile gerçekleştirilmektedir. Empedans ölçümleri, üçlü elektrot sisteminde, elektrokimyasal hücrede iletkenliği sağlamak amacı ile tuz içeren redoks prob çözeltileri içerisinde gerçekleştirilmektedir. Empedans ölçümleri için farklı yaklaşımlar bulunmakla birlikte, yüzeye tek frekansta voltaj ya da akım uygulamak en yaygın olanlarındandır. Bu sistemde faz ayrımı (phase shift) ve dalga boyu ölçülebileceği gibi, uygulanan sabit frekansta elde edilen akım yanıtının gerçek ve hayali kısımlarını ölçerek de analiz yapmak mümkündür. (Barsoukov and MacDonald; 2005)

Empedans ölçümleri için geliştirilen potansiyostatlar ve yazılımlar araştırmacıların işlerini kolaylaştırmaktadırlar. Ticari olarak satılan ve 1mHz'den 1MHz'e dek sabit bir adım genişliği ile artarak değişen frekansta otomatik olarak frekansın bir fonksiyonu olarak empedans değerini veren yazılımlar bulunmaktadır. Bu kolay kullanılabilir, kolaylıkla ulaşılabilir cihazların önemli avantajlarından biri de eski sistemlere kıyasla çok daha iyi sinyal-gürültü oranının elde edilmesini sağlayacak donanıma sahip olmasıdır.

EIS ölçümleri sonucunda elde edilen veriler, cihazın yapısı dışında başka parametrelere de bağlıdır; kullanılan elektrotun ve diğer kimyasalların kendinden kaynaklı olan parametreler elde edilen verilerin kalitesini etkileyen başlıca faktörlerdendir. Kullanılan materyalin iletkenliği, dielektrik sabiti, akım taşıyabilme kapasitesi, elektroaktif türlerin konsantrasyonu arasındaki denge, balk çözeltinin geri dönüşüm oranı bunlardandır. Bir diğer önemli faktör ise elektrot madde ara yüzeyine etki eden mekanizmalardır. Adsorbsiyon-reaksiyon oranı sabiti, difüzyon katsayısı, nötr türlerin varlığı bu mekanizmalardandır.

Yapılan EIS ölçümü sonunda elde edilen Nyquist grafik gözlemlenen yarım daireler üzerinden empedans değerleri hesaplanabilmektedir. Elde edilen Nyquist diyagramlar Şekil 2.13'tekine benzer biçimdedir.



Şekil 2.13 Nyquist diyagram

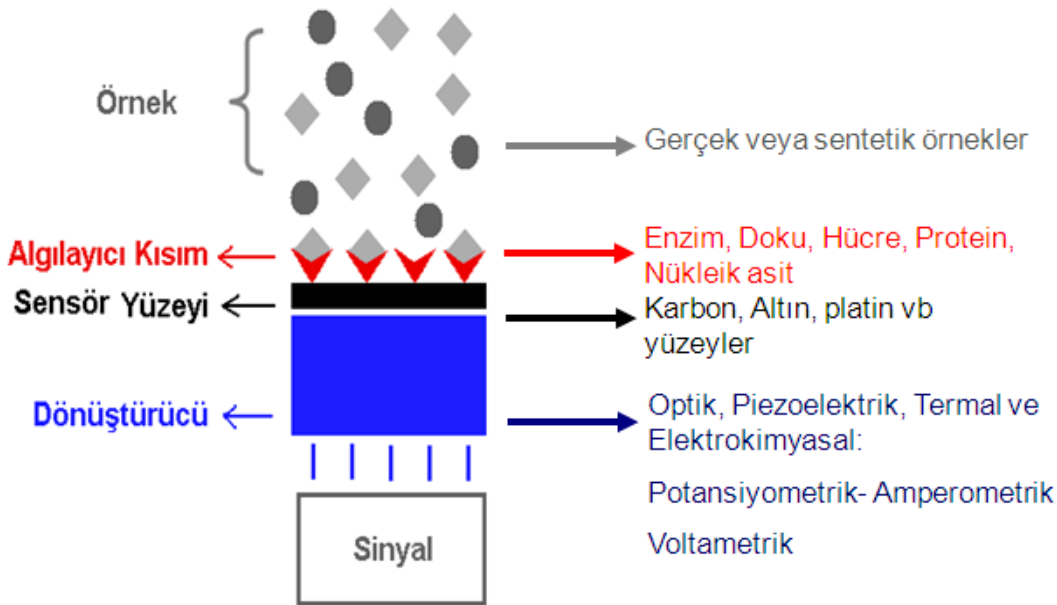
Empedans ölçümlerine ait Nyquist grafiğinde gözlenen yarım daire, yüzeydeki elektron transferine karşı olan direncin değişimini, doğrusal kısım ise difüzyona bağlı değişimi göstermektedir. Grafikteki görülen Z' ve Z'' üssü eksenleri sırası ile gerçek ve hayali empedans değerlerini temsil etmektedir. Kullanılan farklı yazılım sistemine bağlı olarak farklı eğriler çizilebilir. Empedans ölçümünde gerçekleşen fiziksel olayları modellemek amacı ile sistem bir elektrik devresi ile sembolize edilmektedir. Şekil 2.13'ün içinde görülen eşdeğer devre modelinde R_s değeri çözelti direncini, W difüzyona

bağlı Warburg empedansını, C_d elektrot yüzeyine yakın yerdeki boşlukta oluşan şarj kapasitansını ve R_{ct} şarj transfer rezistansını temsil etmektedir.

Elektrotun elektriksel parametreleri hakkında yorum yapmamızı sağlayan asıl parametre R_{ct} değeridir. Büyüklüğü Nyquist grafiğinde gözlenen yarım dairenin çapından yola çıkarak hesaplanır. Sistemden akım geçerken çalışma elektrotundan içinde bulunduğu çözeltiye doğru elektron akışı söz konusudur. R_{ct} değeri ise, elektronların elektrot yüzeyinden ayrılarak çözeltiye geçmesine karşı olan elektrot direncinin miktarıdır.

2.2 Biyosensör

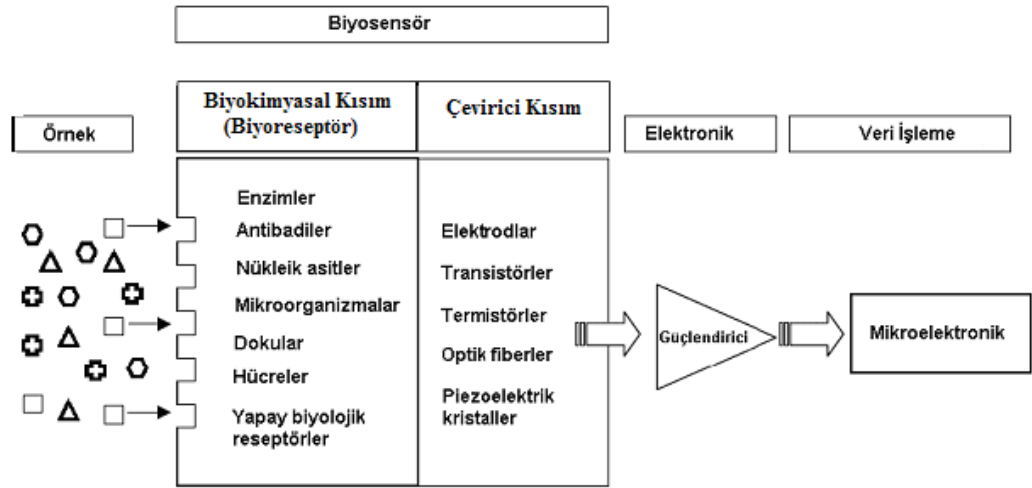
Hedef analitin algılanmasında biyolojik etkileşimlerden yararlanan sistemlere **Biyosensör** denilmektedir. Biyosensörler birbiri içine geçmiş iki kısımdan oluşmaktadır. Bunlardan ilki analiz edilecek maddeyle etkileşerek onu tanıyan biyokimyasal kısım, diğeri ise bu tanıma olayını ölçülebilir bir sayısal değere çevirmekle görevli Çevirici Kısımdan oluşmaktadır (Camman et al., 1991; Coulet, 1991; Turner, 1987). Enzimler antikorlar, reseptörler, organel ve hücreler sensörün biyolojik algılayıcı kısmını oluşturur. Hücre olarak mikroorganizmalar kullanılabileceği gibi bitki ve hayvan hücreleriyle çalışılan örnekler de mevcuttur.



Şekil 2.14 Biyosensörün kısımları

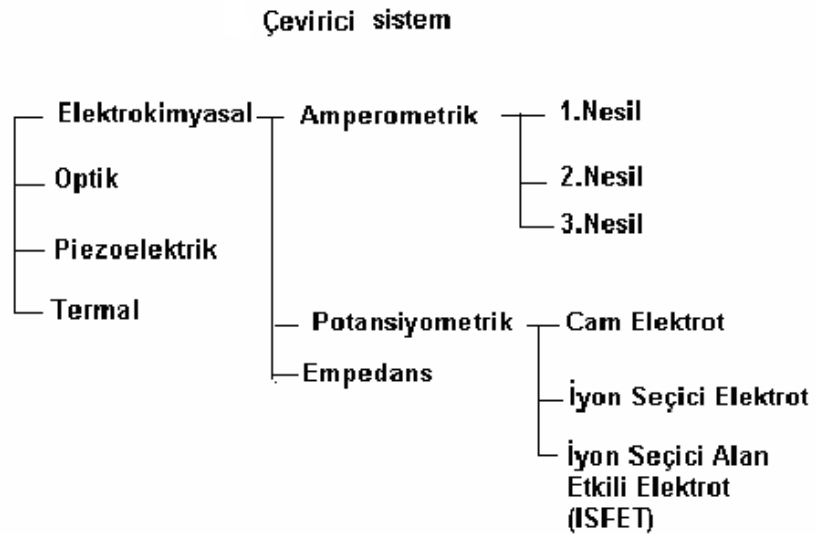
2.2.1 Biyosensör çeşitleri ve özellikleri

Biyosensörlerde, kullanım amacına bağlı olarak farklı biyolojik algılayıcılar kullanılabilmektedir. Bunun yanı sıra biyoaktif bileşenin tayin edilecek madde ile etkileştiğinde oluşan sinyalin iletim ve ölçümünde elektrokimyasal, optik, kalorimetrik ve piezoelektrik esaslı sistemler gibi farklı sistemler kullanılabilmektedir.



Şekil 2.15 Biyosensörlerin sınıflandırılması

Gerek kullanılan biyolojik aktif materyal gerekse kullanılan dönüştürücü sistemden yola çıkarak biyosensörleri sınıflandırmak mümkündür.



Şekil 2.16 Kullanılan çevirici sisteme göre biyosensörlerin sınıflandırılması

Biyosensörler birçok parametreye göre nitelendirilmektedir. İdeal bir biyosensörün sahip olması gereken bu özellikler aşağıda sıralanmaktadır (Hall, 1990).

Seçicilik: İdeal bir biyosensörde en önemli parametrelerden birisi, seçicilik özelliğidir. Sistemin analite karşı olan özgünlüğünü göstermektedir. Seçici bir biyosensör başka reaktiflere ilgi göstermez ya da az gösterir. Eğer yeterli seçicilik mevcut değilse, bu eksiği giderecek uzun işlemler eklenmesi gerekmektedir.

Kullanım ömrü: Cihazın, performansında gözle görülür bir azalma olmadan verdiği hizmet ömrüdür. Biyosensörün kullanım ömrünü kısıtlayan en önemli faktör, biyolojik kısmın aktivitesindeki azalmadır. Bu durum ayrıca, biyosensörün kalibrasyon sıklığı, stabilite, tekrarlanabilirlik gibi diğer parametreleri de etkilemektedir.

Tekrarlanabilirlik: İdeal bir biyosensörde, aynı koşullar altında arka arkaya yapılan ölçümlerde hemen hemen aynı sonuçların elde edilmesi beklenir. Pratikte pek mümkün olmayan bu durum göz önüne alınarak, yapılan çalışmalarda tekrarlanabilirlik parametresi mutlaka incelenmelidir. Tekrarlanabilirlik ne kadar iyi olursa, biyosensörün uygulamalarının o denli iyi olduğundan söz edilebilir.

Kararlılık: Analiz süresince elektrotun ya da tampon çözelti gibi bazı bileşenlerin bozunmadan kalması beklenir. Özellikle elektrot kararlılığının yüksek olması ideal biyosensörler için gereklidir. Kararlılık, kullanılan elektrotun yapısına, biyolojik materyalin fiziksel dayanıklılığına bağlıdır; ayrıca pH, ısı, nem, ortamdaki oksijen konsantrasyonu gibi parametrelerden de etkilenmektedir.

Duyarlılık: Biyosensöre yüzeyinde kullanılan biyolojik materyalin yalnızca hedef analite duyarlı olması beklenir. Biyosensörlerin özellikle nükleik asit biyosensörlerinin en önemli özelliklerindendir. Seçilen biyolojik materyalin kompozisyonuna göre hedef analit dışındaki maddelere hiç ya da çok az yanıt verir.

Tayin sınırı: Tasarlanan bir biyosensörün tespit edebileceği en düşük analit konsantrasyonunu temsil etmektedir. Tayin sınırı, elektrot yüzeyinin büyüklüğü, biyolojik materyalin tayin edilecek maddeye afinitesi, immobilize edilen madde miktarı gibi faktörlerden etkilenir.

Ölçüm aralığı: Biyosensör uygulamalarında ölçüm aralığı olarak adlandırılan bölge biyosensörlerden alınan akım-konsantrasyon eğrilerinin lineer olduğu konsantrasyon aralığıdır. Cihazın ölçebildiği analit konsantrasyonunu temsil etmektedir. Analitin belli bir konsantrasyonun altında veya üstünde olduğu durumlarda sensörden istenen duyarlılıkta sonuç alınamamaktadır.

Ölçüm zamanı: Bir biyosensör elektrotunun cevap zamanı elde edilen akım-zaman eğrilerinden anlaşılabilir. Örneğin elde edilen eğride basamakların şekli basık ve genişse cevap zamanı uzun (yavaş), tersi söz konusu ise cevap zamanı kısa (hızlı)'dır.

Kalibrasyon gereksinmesi: İdeal bir biyosensörün hiç kalibrasyona gerek duymaması ya da en az kalibrasyona gereksinmesi istenir. Fakat bu özellik, teorikte planlandığı gibi değildir, pratikte gerçekleştirilememektedir. Kullanım ömürleri boyunca biyosensörler, sıklıkla kalibre edilmelidirler.

Hızlı geriye dönme zamanı: Geriye dönme zamanı, örneğin amperometrik çalışmalarda, ilk örnekten ne kadar süre sonra ikinci örneğin ölçülebileceğini belirleyen parametredir. İlk örneğin ilavesinden sonra sabit akım değerleri kısa sürede gözlemleniyorsa, söz konusu sensörün yüksek geri dönme hızına sahip olduğu söylenebilir.

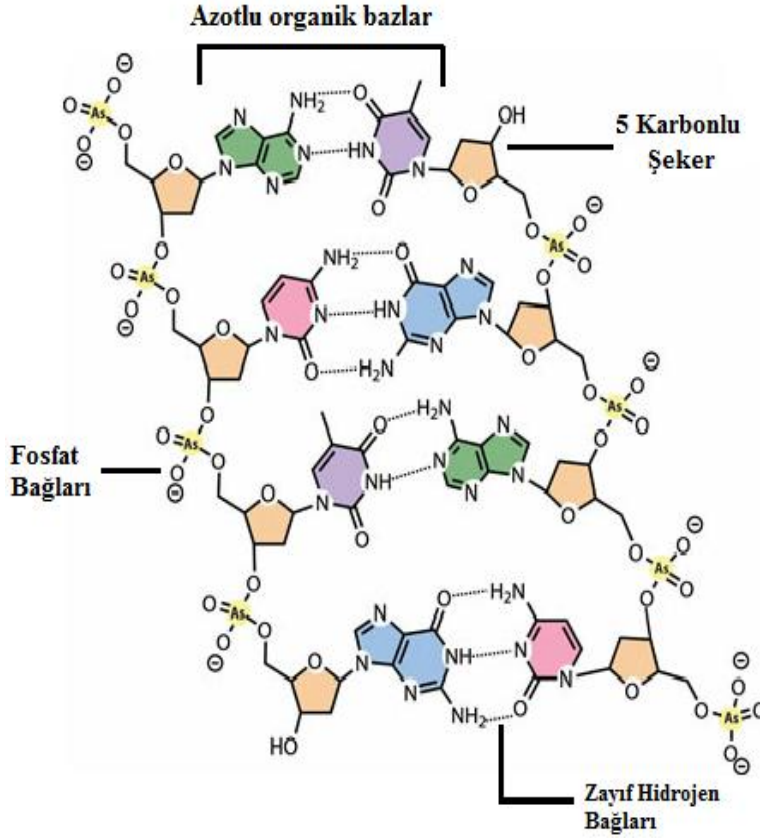
Basitlik ve ucuzluk: Tasarımı basit, ekipmanları ve sarfiyatı ekonomik, kullanımı rahat biyosensörler ideal biyosensörler olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle ilk biyosensörlerdeki karmaşık ve pahalı yapılar, teknoloji ilerledikçe yerini basitleştirilmiş ve ekonomik modellere bırakmıştır.

Küçültülebilirlik ve sterilize edilebilirlik: Biyolojik materyallerin kolaylıkla kontamine olabilmesi nedeni ile elektrotlarının sterilize edilebilmesi ve kullanım kolaylığı açısından boyutlarının küçük olması önemlidir. Buna karşın, biyosensör yapısına giren biyolojik materyalin fiziksel dayanıklılığı, sterilizasyonu kısıtlayan en önemli parametredir.

2.2.2 Nükleik asitler ve DNA

Deoksiribonükleik asit (DNA)'ın yapısı ilk defa 1953 yılında Watson ve Crick tarafından günümüzdeki şekline en yakın biçimde modellenmiştir. Her bir DNA zinciri art arda dizilmiş ve birbirlerine 3'-5' fosfodiester bağları ile

bağlanmış nükleotid zincirlerinden oluşmaktadır (Dervan, 1986; Dervan, 1998 (a,b)). Yapılan çalışmalar sonunda DNA molekülünde adenin (A) ve timin (T) miktarları ile guanin (G) ve sitozin (C) miktarlarının eşit olduğu belirlenmiştir. Watson, Crick ve Wilkins bu bilgilerin ışığında yaptıkları çalışmalar sonunda DNA yapısını ve çift sarmallı heliks modelini öne sürmüşlerdir.



Şekil 2.17 DNA'nın yapısı

Nükleotid olarak adlandırılan ve DNA zincirinin omurgasını oluşturan yapı 5 karbonlu bir şeker ve buna bağlı bulunan azotlu organik bir bazdan oluşmaktadır. DNA'da bulunan bazlar Pürin ve pirimidin olmak üzere iki grupta toplanmaktadır. DNA'da bulunan bazlardan sitozin ve timin pirimidinleri, adenin ve guanin ise pürinleri oluşturmaktadır. Nükleotidin yapısında bulunan bu bazlar özgün dizilimleri sayesinde bu molekülün seçiciliğini sağlarlar. Çift sarmal yapı ise iki nükleotid zincirinin karşılıklı olarak bir araya gelerek zayıf hidrojen bağları ile bağlanması ile oluşmaktadır. Hidrojen bağları guaninlerle sitozinleri, adeninlerle timinleri birbirine bağlamaktadır.

Hücre bölünmesinden hemen önce, organizmadaki genetik bilgilerin oluşacak yeni hücrelere aktarılması amacı ile hücre çekirdeğinde bulunan DNA

kopyalanarak özdeş iki DNA meydana gelmesi olayına **DNA replikasyonu** denilmektedir. DNA replikasyonu sırasında birçok enzim görev almaktadır. Bunlardan biri olan **endonükleazlar** çift zincirli yapıdaki zayıf hidrojen bağlarını kırarak zincirlerin kopyalanmasına imkan tanır. Ardından başta **ligaz** enzimi olmak üzere diğer enzimler ve hücre içinde bulunan serbest nükleik asitler yardımı ile her bir tek sarmalın eşleniği üretilir. Böylelikle birbirinin kopyası iki adet çift sarmal DNA zinciri elde edilir. DNA hibridizasyonu DNA biyosensörlerinde hedef DNA dizilerinin tanınmasında yararlanılan başlıca mekanizmalardandır.

DNA'da bulunan bu hidrojen bağlarının çeşitli etmenlerle bozulması olayına DNA **Denatürasyonu** denilmektedir. Denatürasyon sonucu DNA'nın çift zincirli yapısı bozunur. Uygun şartlar altında bu yapının yeniden bir araya gelmesine ise **Renatürasyon** denilmektedir.

Düzlemsel halka yapısına sahip bazı moleküllerin DNA'ya yerleşerek güçlü bir şekilde bağlanması durumuna **İnterkalasyon** denilmektedir (Dökmeci, 1992; Bertino, 1992). DNA ile etkileşen maddenin kimyasal yapısına bağlı olarak bu bağlanma durumu dönüşümlü ya da dönüşümsüz bir şekilde olabilir (Wang et al., 1996).

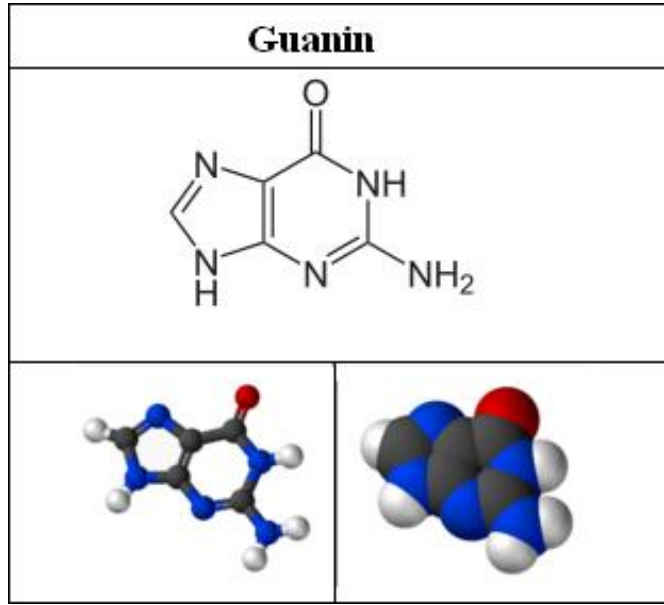
2.2.3 Elektrokimyasal DNA biyosensörleri

Elektrokimyasal teknikler ve cihazlar sekans-spesifik DNA hibridizasyon analizlerinde dikkat çekici bir çözüm sunmaktadır. Bu cihazlar ile DNA hibridizasyonunun elektrokimyasal tayini sadece boyutu, maliyeti, pratikliği ile değil moleküler düzeyde analize imkan sunması ile de dikkat çekmektedir (Wang, 2002)

Tanıma yüzeyi olarak DNA'nın kullanıldığı biyosensörlere **DNA biyosensörleri** (Nükleik asit biyosensörleri ya da genosensörler) adı verilmektedir (Mikkelsen, 1996; Palecek, 1988). DNA hibridizasyon biyosensörlerinde analiz, tanıma yüzeyine immobilizedilmiş tek sarmal oligonükleotid zincirinden oluşan prob dizinin hedef dizinin sekansına sahip oligonükleotid dizisiyle hibridizasyonuna dayanır. Yüzeye tutturulmuş prob dizinin karşılığı olan hedef dizi ile hibridizasyonu ölçülebilir değerlerde bir elektrokimyasal sinyale yol açar (Kerman et al., 2003; Wang, 1996 (a)) Hibridizasyon analizlerinin yanı sıra DNA biyosensörlerinin sıklıkla kullanıldığı bir diğer alan ise DNA ile madde

etkileşimlerinin incelenmesidir (Brett et al., 1997; Erdem et al., 2005 (b); Erdem and Ozsoz, 2001 (a)).

Günümüzde kısa sürede sonuç veren, kolay kullanılabilir, geniş çaplı genetik testlere ve ekonomik, kompakt sistemlere çok daha fazla ihtiyaç duyulmaktadır. Jel elektroforezi veya membran işaretleme gibi klasik moleküler analiz metotları oldukça yavaş ilerleyen ve yüksek bilgi, uzmanlık gerektiren sistemlere sahiptirler. Biyosensörler ise nükleik asit analizlerinde bu yöntemlere alternatif olarak hızlı, ucuz ve kolay analiz imkânı sunmaktadır (Wang, 2002)



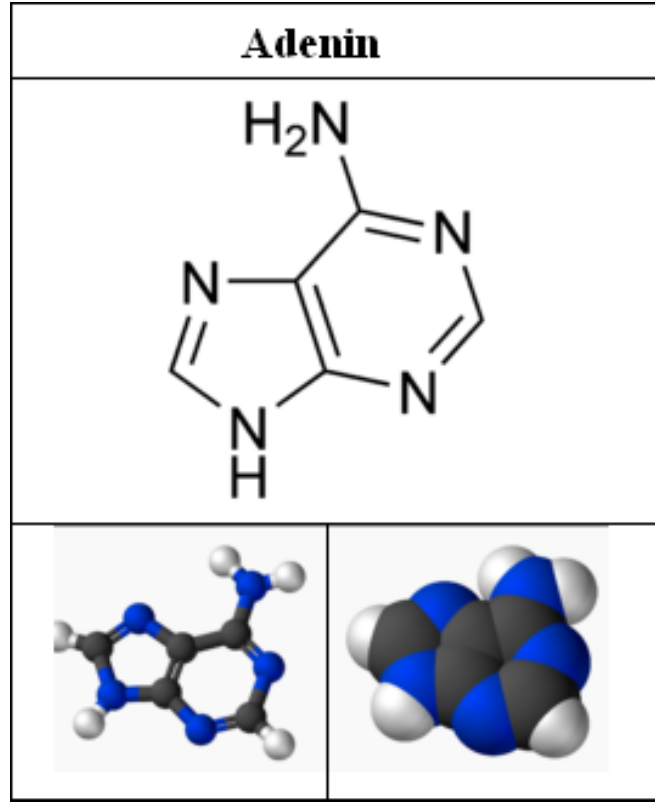
Şekil 2.18 Guanin'nin yapısı

Nükleik asitlerin elektrokimyasal aktivitesi nükleobaz (nükleik asit) ve şeker tabanlı bileşenlerindeki elektro aktiflikten kaynaklanmaktadır (Paleček and Jelen, 2005). DNA da bulunan bazlardan ikisi; Guanin ve Adenin sahip oldukları elektroaktivite sayesinde nükleik asit biyosensörlerinden söz edilebilmektedir.

DNA biyosensörlerinde sensörün tanıma yüzeyini oluşturan nükleik asitler tüm bir genomdan oluşabileceği gibi **Prob** adı verilen kısa DNA dizilerinden de oluşabilmektedir (Erdem et al., 2002; Erdem et al., 2006(a); Karadeniz et al., 2006). Hibridizasyon tayininin daha kolay gerçekleşmesi için, prob dizisinin elektrot yüzeyine güçlü ve düzenli bir şekilde bağlanması gerekmektedir. Bu amaçla literatürde kullanılan farklı teknikler bulunmaktadır.

Pasif adsorbsiyon bu teknikler içerisinde uygulanması en kolay olan yöntemdir. Bu yöntemde kullanılan elektrot, prob içeren analiz çözelti içerisine daldırılır ve probun elektrot yüzeyine pasif adsorbsiyonla adsorbe olması beklenir (Erdem, 2007 (b); Erdem et al., 2006 (b); Ozsoz et al., 2003).

Elektrot yüzeyine pozitif (+) potansiyel uygulanarak, negatif (-) yüklü fosfat omurgasına sahip olan DNA'yı elektriksel çekim kuvvetleri yardımı ile yüzeye çekmek kullanılan bir diğer yöntemdir (Ozkan et al., 2004).



Şekil 2.19 Adenin yapısı

DNA'yı elektrot yüzeyine tutturma için bir takım kovalent bağlayıcı ajanlar kullanmak da mümkündür. Bu yöntem ile elektrot yüzeyine tutturulan DNA düzenli bir sıra halinde immobilize edilir ve oluşan bağ daha dayanıklıdır. Özellikle ortaya çıkan düzenli yapı hibridizasyon analizlerinin verimliliği için önemlidir. Ancak gerek kullanılan kimyasalların maliyeti, gerekse artan işlem basamakları nedeni ile bir takım dezavantajlara sahiptir (Ozkan et al., 2002 (a); Millan and Mikkelsen, 1993).

Biyosensörlerde kullanılan bir diğer immobilizasyon tekniği ise spesifik bir etkileşim olan Avidin-Biyotin etkileşiminden yararlanılmasıdır. Elektrot yüzeyi

streptavidinle kaplanır ve biyotin ile işaretlenmiş prob bulunan ortama konulduğunda iki molekül arasındaki güçlü afinite nedeniyle spesifik bir şekilde tutturulmaktadır (Erdem et al., 2006 (b); Erdem et al., 2007; Ozkan et al., 2002(b); Wang et al., 2002).

2.2.4 Elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin sınıflandırılması

Elektrokimyasal dönüştürücüler DNA hibridizasyonunun tayininde son zamanlarda büyük ilgi toplamaktadır. Bu cihazların yüksek hassasiyeti, modern mikro fabrikasyon teknolojisi ile birleştirilebilirliği, taşınabilirliği, düşük maliyeti, düşük enerji ihtiyacı ve örnek bulanıklığı ya da optik yol izleri gibi sorunlardan bağımsız olması ile DNA analizleri için mükemmel alternatifler olmaktadır. (Joseph, 2002). Günümüzde tasarımı yapılan DNA biyosensörlerinin iki temel konu üzerine yoğunlaşma görülmektedir; DNA hibridizasyonunun tayini ve DNA ile etkileşime giren maddelerin analizleri. Bu açıdan bakıldığında DNA biyosensörleri iki grupta toplanmaktadır;

- *DNA hibridizasyonuna dayalı DNA biyosensörleri*
- *Madde-DNA etkileşmesine dayalı DNA biyosensörleri*

DNA hibridizasyon tayinlerinde amaç, DNA'nın sahip olduğu spesifik hibridizasyon yeteneğinden yararlanarak seçici bir biçimde ortamdaki genomun tespit edilmesidir. Temel olarak analiz, elektrot yüzeyinde tutturulan tek sarmal DNA dizisinin (**Prob**) karşılığı olan dizi (**Hedef**) ile eşleşerek çift sarmal yapı benzeri bir yapı kurmasına dayanır. Bu yöntem ile örneğin, genetik bir hastalıktan sorumlu gen diziliminin varlığı ya da yokluğu tespit edilebilir. Söz konusu hastalığın kaynağı olan gen dizilimi biliniyor ise, elektrot yüzeyine bu diziye karşılık gelen prob dizi immobilize edilir, ardından DNA örneğiyle etkileşime sokulur. Hedef dizi o DNA havuzunda varsa hibritleşme olur ve seçilen tayin yöntemine göre elde edilen sinyal sayesinde tespit edilir. Benzer şekilde bulaşıcı bir hastalığın kaynağı olan bakteri, toprak ya da gıda kirliliğine neden olan bir takım mikroorganizmalar bu yolla tayin edilebilir (Kalogianni et al., 2006; Erdem et al., 1999 (a); Erdem et al., 2006(b); Garcia-Canas et al., 2004; Wang et al., 1998)

Çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlardan, doğada bulunan toksik atıklara, kimyasal ajanlara dek pek çok molekül farklı şekilde DNA ile etkileşime

girebilmektedir. Madde DNA etkileşimleri ile ilgili yürütülen DNA biyosensörleri araştırmaları içinde DNA ile etkileşime girebilen ilaçların analizi ayrı bir önem teşkil etmektedir. Bu yöntem sayesinde yeni sentezlenen ilaçların hızla taramaları yapılabilmektedir (Erdem and Ozsoz, 2001 (b); Erdem and Ozsoz, 2002; Karadeniz et al., 2007).

2.2.5 Elektrokimyasal yöntemlerle hibridizasyon analizleri

Gelişen teknoloji ile birlikte moleküler teknoloji alanında büyük gelişmeler yaşanmış, bu gelişmeler sayesinde birçok organizmanın DNA'sı deşifre edilmiştir. İnsan DNA'sının yanı sıra bir takım hastalık yapıcı bakteri ve virüslerin genomlarının aydınlatılması ile birçok hastalığın bu veriler kullanılarak tayin edilmesine olanak tanınmıştır. Biyosensörler ise bu alana yeni bir bakış açısı getirerek hem araştırmalara hız kazandırmış hem de bu bilgilerin günlük hayatta kullanılabilirliğini sağlamıştır.

Elektrokimyasal DNA hibridizasyon tayini, genellikle, kontrollü potansiyel altında Watson-Crik baz çiftlerinde meydana gelen değişimin görüntülenmesi ilkesine dayanmaktadır (Wang, 2002; Mikklesen, 1996; Palecek and Fojta, 2001). Bu tip analizlerde prob dizi kaplı elektrot çoğunlukla test edilmek istenen nükleotid sekansına sahip hedef DNA diziyi içeren çözeltiye daldırılır. Eğer çözelti içinde aranan hedef DNA dizisi varsa prob dizi ile eşleşerek elektrot yüzeyinde çift sarmal DNA kompleksini oluşturur.

Ayrıca çeşitli analizlerde DNA'nın elektroaktif bazlarından hareketle indikatörsüz tayinler de yapılabilmektedir. Hibridizasyon analizleri, doğrudan DNA üzerindeki bazların elektrokimyasal sinyallerindeki değişimden yararlanarak analiz edilebileceği gibi DNA ile etkileşime girebilen, elektrokimyasal bir indikatöre ait sinyaldeki artış-azalış ile de tespit edilebilir (Erdem et al., 2006 (b); Lucarelli et al., 2002 (a)).

İndikatörsüz hibridizasyon analizlerinde, DNA'da bulunan guanin ve adenin bazlarından yararlanılmaktadır. Tek sarmal DNA dizisi ya da prob dizi elektrot yüzeyine tutturularak elektrokimyasal sinyalleri ölçüldükten sonra hibridizasyonun gerçekleşmesi için elektrot hedef DNA'nın bulunduğu çözeltiye daldırılır.

Hibridizasyon süresinin ardından yapılan ölçümde elde edilen elektrokimyasal sinyal ile ilk sinyal birbiri ile kıyaslanır. Böylelikle DNA eşleşmesinin gerçekleşip gerçekleşmediği, aranan genomun ortamda bulunup bulunmadığı tespit edilmiş olur (Kerman et al., 2004; Lucarelli et al., 2002 (b)).

Hibridizasyon analizinde kullanılan indikatörler ise DNA ile etkileşime girebilen maddeleri içermektedir. İndikatörler kendilerine özgü elektrokimyasal sinyallere sahiptirler ve hibridizasyona bağlı olarak sinyallerinde meydana gelen artış ya da azalışı takip edilerek analiz gerçekleştirilmektedir. İndikatörlerden bazıları DNA'daki çift sarmalda bulunan özel oluklara yerleşebilecek kimyasal yapıya sahipken, bazıları gibi spesifik olarak bir baza bağlanma kabiliyetindeki moleküllerden (Kerman et al., 2004; Lucarelli et al., 2002 (b)).

2.2.6 Elektrokimyasal yöntemlerle madde DNA etkileşim analizleri

DNA ile farklı şekillerde etkileşime girdiği bilinen birçok molekül bulunmaktadır. İlaçlar ve toksinler bu listenin başında gelmektedir. DNA hedefli anti kanser, anti tümör ilaçlar madde DNA etkileşim çalışmalarının büyük kısmını oluşturmaktadır. Biyosensör çalışmaları ile birçok anti kanser ilacın etki mekanizmasının aydınlanması ve geliştirilen yeni ilaçların hızlılıkla analiz edilmesi sağlanmıştır.

Madde-DNA etkileşimine dayalı biyosensörlerde iki türlü analizden söz edilebilmektedir. İlk yöntemde DNA ile etkileşen molekülün kendine ait olan elektrokimyasal sinyali, etkileşime bağlı olarak artar ya da azalır. İkinci teknikte ise madde ile DNA'nın etkileşmesi sonucunda, DNA bulunan elektroaktif bazlardan guanin veya adenin sinyalindeki değişim üzerinden duyarlı bir tayin yapılabilmektedir. (Brett et al., 1997; Erdem et al., 2005 (b); Erdem and Ozsoz, 2001 (a)).

DNA ile etkileşen maddeler etkileşim biçimleri yönünden de iki gruba ayrılır; antibiyotikler ve bir takım ilaçlar gibi interkale olabilen moleküller ile bazı boyalar gibi bazlara özgü bağlanarak etkileşen moleküller (Carter and Bard, 1987; Carter et al., 1989; Erdem et al., 1999 (a); Erdem et al., 1999 (b); Erdem et al., 2002; Erdem et al., 2000). Elektroaktif bir maddenin indikatör olarak kullanılabilmesi için tek ve çift sarmal DNA ile etkileşimi sonucu alınan yanıtlar arasında anlamlı bir fark olması gerekmektedir.

İnterkalasyon; düzlemsel halkalı yapıya sahip moleküllerin DNA çift sarmalı arasına girip birikmesidir. Bu durumda, çift sarmal DNA (dsDNA) ile etkileşimden sonra alınan madde sinyali, tek sarmal DNA (ssDNA) ile etkileşimden sonra alınan madde sinyaline göre oldukça yüksektir. Moleküllerin çift sarmal yapıda yerleşebilecekleri oluklar bulması, bu nedenle daha fazla birikmesi bunun nedenidir (Carter and Bard, 1987; Erdem, et al., 1999 (b); Erdem et al., 2002).

Literatürde hibridizasyon indikatörü olarak kullanılan moleküllerden bazıları DNA'da bulunan bazlardan birine, örneğin guanine spesifik olarak bağlanma eğilimindedir (Erdem et al., 2002; Erdem et al., 1999 (a); Kara et al., 2002 (a); Kara et al., 2002 (b)). Bu tip moleküller tek sarmal DNA (ssDNA) 'da bazlar açıkta olduğundan daha fazla birikirken hibridizasyonun ardından çift sarmal DNA (dsDNA)'daki bazlar kapalı olduğundan daha az birikmektedir. Buna bağlı olarak elde edilen molekül sinyali tek sarmalda çift sarmala kıyasla daha yüksek olmaktadır. (Carpini et al., 2004; Erdem et al., 1999 (b)).

2.2.7 Antikanser İlaç-DNA etkileşimlerinin DNA biyosensörleri ile tayini

DNA ile farklı şekillerde etkileşime girdiği bilinen birçok molekül bulunmaktadır. İlaçlar ve toksinler bu listenin başında gelmektedir. DNA hedefli anti kanser anti tümör ilaçlar ise madde DNA etkileşim çalışmalarının büyük kısmını oluşturmaktadır. Literatürde birçok ilacın bu DNA ile etkileşiminin elektrokimyasal biyosensörler yardımı ile analizine dair sonuçlar bulunmaktadır.

Erdem ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları çalışmada anti kanser bir ilaç olan *Epuribisin'in* (EPR) çift sarmal ve tek sarmal DNA ile olan etkileşimleri CPE yüzeyinde incelenmiştir. Yapılan DPV ve dönüşümlü voltametri (CV) ölçümleri elde edilen sonuçlara bakıldığında yüzeyinde hiç bir şey bulunmayan yalın CPE elektrot ile elde edilen EPR sinyalinin, gerek tek sarmal gerekse çift sarmal DNA immobilize edilmiş elektrottan elde edilen sinyalden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra bu çalışmada, tek sarmal DNA varlığında elde edilen sinyalin çift sarmal ile elde edilenden büyük olması nedeni ile EPR'nin hibridizasyon indikatörü olarak kullanılabileceğini gösterilmiştir (Erdem and Ozsoz, 2001(a)).

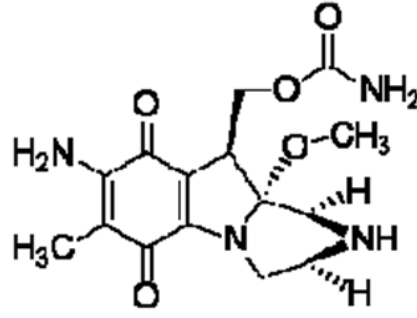
Anti tümör etkili bir antibiyotik olan *Echinomisin'in* (Echi) çift sarmal ve tek sarmal DNA ile etkileşmesi Jelen ve arkadaşları 2002 yılında araştırılmıştır. İlgili çalışmada civa damla elektrot yüzeyinde CV tekniği ile Echi'nin hibridizasyon indikatörü olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Jelen et al., 2002). Karadeniz ve arkadaşları ise altın elektrot yüzeyinde yürüttükleri çalışmada Echi'nin yanı sıra $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ de hibridizasyon indikatörü olarak kullanılabilirliğini göstermiştir (Karadeniz et al., 2006).

Karadeniz ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışmada *Lycorin* (LYC) isimli ilacın buza timüs bezinden elde edilen tek sarmal ve çift sarmal DNA ile olan etkileşimleri karbon pastası (CPE) ve tek kullanımlık kalem grafit elektrot (PGE) yardımı ile incelenmiştir (Karadeniz et al., 2003). LYC'nin DNA ile olan etkileşimleri guanin ve adeninin voltametrik sinyallerindeki değişimin, diferansiyel puls voltametrisi (DPV) tekniği ile analiz edilmesine dayanmaktadır. Yapılan bu çalışma sonunda LYC'nin DNA ile etkileşmesi sonunda guanin ve adenine ait yükseltgenme sinyallerinde büyük artışlar görülmüştür (Karadeniz; 2003).

Bir başka çalışmada ise anti kanser etkili bir ilaç olan *Daunorubicin'in* (DNR) çift sarmal DNA ile olan etkileşimi incelenmiştir (Erdem et al., 2009). Çalışmada ilaç-DNA etkileşimi yalın PGE yüzeyi yanı sıra karbon nanotüp ile modifiye edilmiş PGE yüzeyinde de gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ayrıca DPV ile yapılan ölçümler ile birlikte elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği de kullanılmıştır (Erdem et al., 2009).

Erdem ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada bir başka antikanser ilaç olan *Bleomisin*in DNA ile etkileşimini impedimetrik olarak incelenmişlerdir (Erdem et al., 2013). Bu çalışma kapsamında öncelikle *Bleomisin*in tek sarmal ve çift sarmal DNA ile olan etkileşimi tek kullanımlık kalem grafit elektrot yüzeyinde EIS tekniği ile incelenmiş ardından farklı kemoterapik ajanlar varlığında ve çeşitli parametreler sensörün seçiciliği araştırılmıştır (Erdem et al., 2013).

Çalışmamızda da kullanmış olduğumuz Mitomisin C (MC) (Şekil 2.20) seçici olarak DNA sentezini bozan, mitozu ve protein sentezini inhibe eden bir alkilleyici ajandır. MC *Streptomyces caespitosus*'dan elde edilen ve 334 dalton ağırlığında olan MC su ve organik çözücülerde çözünebilen bir antibiyotiktir (Abraham et al., 2006)



Şekil 2.20 Mitomisin C'nin kimyasal yapısı

MC, DNA üzerindeki guanin bazları ile çapraz bağ yaparak DNA sentezini bozmaktadır. DNA replikasyonunun inhibe edilmesinin bir sonucu olarak mitozu önleyen bu ilaç sayesinde kanserli hücrelerin çoğalmasını da önlemektedir. (Kayaalp, 1991; Verweij and Pinedo, 1990). Yüksek dozlarda ise bunlara ek olarak RNA ve protein sentezini de inhibe etmektedir. (Chen, 1983). MC mide kanseri, bazı özel akciğer kanserleri, kolorektal kanserler, serviks kanseri, mesane kanseri, pankreas kanseri ve özefagus kanserlerinde sistemik olarak kullanılmaktadır (Kayaalp, 1991) .

Literatürde Mitomisin C ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda farklı polimerik yapılarla sensör yüzeylerinin desteklendiği sistemler görülmektedir. Özkan ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmada MC nin DNA ile olan etkileşimi, CPE ve karbon perde baskılı elektrot (SPE) yüzeyinde incelenmiştir (Özkan et al., 2004). Bu amaçla etkileşim öncesi ve sonrası oksidasyon sinyalleri kare dalga voltametri tekniği (SWV) ve DPV tekniği ile incelenmiştir. Her iki elektrot için deney parametreleri optimize edilmiş tekrar edilebilirlik ve tayin limiti değişkenleri de hesaplanmıştır. Çalışma sonunda her iki elektrodun da MC DNA etkileşiminin tayininde kullanılabilir bir biyosensör olduğu sonucuna varılmıştır (Özkan et al., 2004).

Eksin ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptığı çalışmada PGE yüzeyi kitosan ve iyonik sıvı ile modifiye edilmiştir (Eksin et al., 2013). Elde edilen bu yeni yüzey MC nin DNA ile olan etkileşiminin incelenmesinde kullanılmıştır. Bu amaçla DPV ve CV teknikleri kullanılmış ve MC ile guanine ait yükseltgenme sinyalleri kaydedilmiştir. Optimizasyon çalışmaları sonunda kitosan iyonik sıvı modifiye PGE yüzeyinde MC için elde edilen tayin limiti 4.47 µg/mL olarak tespit edilmiştir (Eksin et al., 2013).

Mitomisin C nin DNA ile etkileşimin 2012 yılında Erdem ve arkadaşları tarafından bu sefer grafen oksit (GO) modifiye sensör yüzeyinde gerçekleştirilmiştir (Erdem et al., 2012(c)). Bu amaçla GO ile modifeye dilen sensör yüzeyinde çift sarmal DNA nın MC ile olan etkileşimi DPV ve EIS teknikleri ile incelenmiştir. Yapılan DPV ölçümleri sonucunda DNA için tayin sınırı 9.06 µg/mL olarak bulunmuştur. EIS çalışma sonuçlarına bakıldığında etkinleşim sonrası azalan negatif yük sebebiyle empedans değerinde düşüş gözlemlenmiştir (Erdem et al., 2012(c)).

2012 yılında yapılan bir çalışmada Erdem ve arkadaşları MC DNA etkileşimini Sepolit ve karbon nanotüp (CNT) modifiye PGE yüzeyinde incelemiştir (Erdem et al., 2012(d)). Elde edilen mofiyeye elektrodun etkinliğinin araştırılması amacı ile mofiyeye edilmemiş PGE, yalnızca CNT modifiye PGE ve Sepiolit CNT modifiye PGE yüzeyinin performanları incelenmiştir. MC DNA etkileşiminin tespiti için DPV ve EIS teknikleri kullanılmıştır. Deney parametrelerinin optimizasyonunun ardından Sepiolit CNT modifiye elektrot yüzeyinde DNA için elde edilen tayin limiti 810 ng/mL olarak bulunmuştur (Erdem et al., 2012(d)).

2.3 Nanoteknoloji

Nanoteknoloji ölçü olarak “nanometre” adı verilen (kısık şekli nm) bir ölçme birimini kullanılır ve bir nm, üç ile beş atom genişliğindedir. Boyutlarından her hangi birinin 100 nm ve daha küçük olması bir malzemeyi nanomalzeme olarak değerlendirmek için yeterlidir. Nanoteknoloji malzeme bilimi, elektronik, kimya, biyoloji gibi birçok alanı kapsayan bir bilim dalıdır ve tıp, elektronik, çevre, gıda, tekstil gibi çok farklı alanlarda uygulama sahası bulmaktadır (Buzea et al, 2007; Wang, 2005).

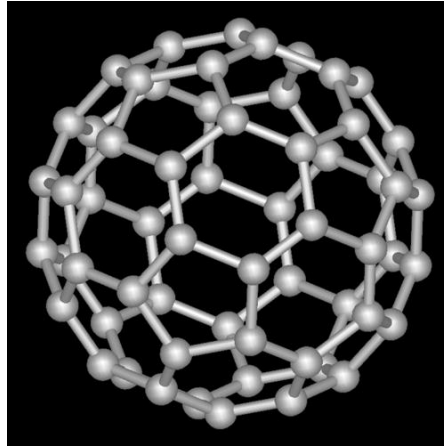
Çok çeşitli uygulama alanları bulunan nano teknoloji günümüzde teorik bir bilim olmaktan çıkmış ve hayatımıza girmiş bulunmaktadır. Günlük hayatta sağlık, tekstil, elektronik, otomotiv, gıda ürünlerinde nano teknolojik ürünlerin uygulamalarına rastlamak mümkündür. Isıya, neme dayanıklı elektronik cihazlar, yüksek görüntü kalitesine sahip ekranlar, çeşitli kozmetikler, su geçirmez, yanmaz kumaşlar, kendini temizleyen nano boyalar, kimyasal ve biyolojik ajanları tespit edebilecek akıllı askeri üniformalar, yüksek yüzey alanlı uzun ömürlü Li-polimer piller bunlardan bazılarıdır. Son 10 yılda, nanopartiküller, nanotüpler, nanorodve diğer nanomalzemelerin uygulama alanı bulduğu bir diğer konu ise biyosensör

teknolojileridir (Bauer et al., 2004; Chen et al., 2001; Erdem al., 2006 (a); Erdem et al., 2007; Wang, 2005; Ju and Zhao, 2005; Congur et al., 2013; Congur et al., 2014; Mese et al., 2014).

Nanoteknolojiyi bu kadar ilginç kılan unsurlardan biri malzemelerin nano-boyuttaki hallerinin makro dünyadan farklı olmasıdır. Örneğin külçe şeklindeki altın başka maddelerle reaksiyona girmek istemezken, nano boyuttaki altın da bu durumun tam tersi gözlemlenmektedir. Kuantum etkileri sebebi ile ortaya çıkan bu farklılık, bilim adamlarının dikkatini çekmekte, son zamanlarda çalışmalar malzemelerin nano boyuttaki hallerinin araştırılması yönünde yürütülmektedir.

2.3.1 Karbon nanotüp uygulamalarına örnekler

Karbon nanotüpler, silindirlerden oluşan fulleren tipi yapılardır. Karbon nanotüplerin bilimsel macerası 1985'te 60 ya da daha fazla karbon atomunun birleştirilmesiyle oluşan futbol topu şeklindeki moleküllerin keşfiyle başlamıştır. Bu topların diğer atom veya moleküllerle yaptığı bileşiklere “fulleren” denir (Şekil 2.21). Bu keşiften sonra birçok laboratuvar sıcak karbon buharını yoğunlaştırarak futbol topu şeklindeki molekülleri elde etmeye çalışmış; bu elde etme işleminden küçük değişikliklerle çeşitli şekil ve boyutlarda küreye benzer yapılar elde edilmiştir. İlk tüp şeklindeki molekülleri 1991'de elektron mikroskobu uzmanı Sumia Iijima fullerenlerin ark-buharlaştırma sentezi sırasında katodda biriken malzemeyi araştırma sırasında bulunmuştur

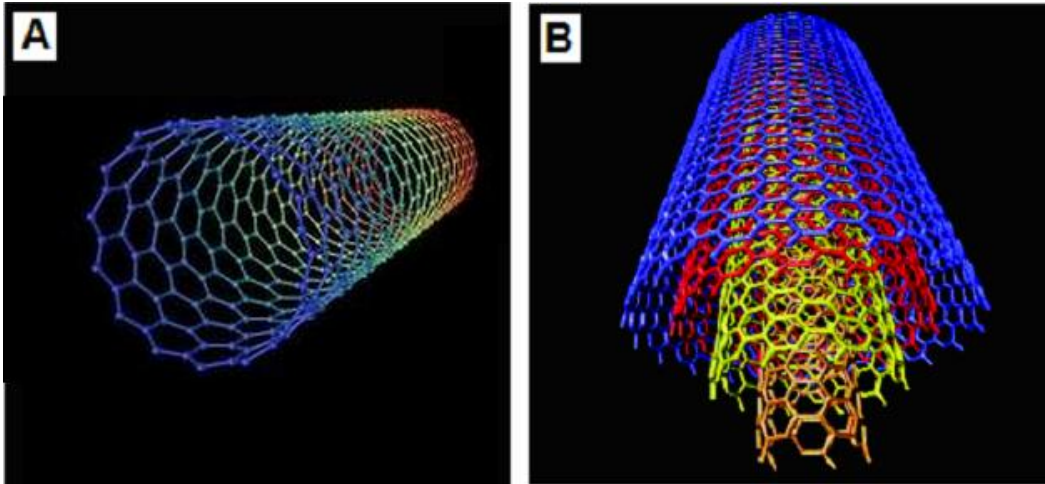


Şekil 2.21 Fulleren

Karbon nanotüpler (CNT) ise üstün elektronik ve mekanik özellikleri ile nano malzemeler içerisinde ayrı bir önem teşkil etmektedir. CNT'lerin mekanik

özelliklerine bakarsak; elmas kadar yüksek mukavemetli, çok yüksek elastisiteye sahip, çelikten 100 kat yüksek çekme kuvvetinde ancak yoğunluğu çeliğin 1/6'sı kadar ve 3000°C'ye dek ısıya dayanıklı olduğu görülmektedir. Bu ilginç mekanik özelliklerinin yanı sıra CNT'lerin biyosensör teknolojilerinde kullanılmasını sağlayan önemli elektronik ve kimyasal özellikleri de bulunmaktadır. Yüzeyi karboksil gruplarıyla zenginleştirilmiş karbon nanotüplerin sahip oldukları fonksiyonel gruplar sayesinde birçok molekül ile kolaylıkla bağ yaparak istenen molekülün sensör yüzeyine hızlı ve pratik bir biçimde immobilize edilmesini sağlamaktadır.

Karbon nano tüplerin biyosensör uygulamalarında elektron transfer hızına yaptığı etki çeşitli çalışmalarca tespit edilmiş, sensör yüzeyinden elektrolit çözeltiye doğru elektron akışını hızlandırdığı görülmüştür (Erdem, 2006 (a); Erdem et al., 2007; Wang, 2005; Ju and Zhao, 2005). Karbon nanotüplerin elektriksel özelliklerine daha yakından bakarsak bir tek grafit levhasının aslında yarı metal, yani elektriksel olarak yarı iletken ile metal arasında orta düzeyde olduğu bilinmektedir. Ancak grafit levha yuvarlanarak nanotüp oluşturulduğunda; daire çevresinde yalnızca karbon atomları sıralanmaz, bununla birlikte elektronların kuantum mekaniksel dalga fonksiyonları da uyumlu olarak yeniden düzenlenir. Oluşan bu yeni sistem sayesinde artık karbon nanotüpler, grafitten farklı elektriksel özelliklere sahiptir.



Şekil 2.22 Karbon nanotüpler (CNT); (A) tek duvarlı ve (B) çok duvarlı

CNT sahip olduğu yüksek elektriksel özelliklerin yanında ilginç fiziksel özelliklere de sahiptir. Örneğin çelikten daha sert ve dayanıklı olan nanotüpler aynı zamanda plastik kadar da esnektir. CNT'ler fiziksel yapılarına göre tek duvarlı (SWCNT) ya da çok duvarlı (MWCNT) karbon nanotüpler olarak

sınıflandırılabilir. SWCNT, tek sıra karbon atomundan oluşan bir grafen katmanının, silindir şeklinde bükülerek uçlarının birleştirildiği ve grafen içerisindeki bağların aynısı ile bu iki ucun birleşmesi ile oluşmaktadır.

CNT, uygulama alanlarından biri olan sensör teknolojilerinde sensör yüzeylerinin gerek CNT, gerekse diğer nano moleküller ile modifiye edilmesinin ardından daha hızlı, daha hassas analizler yapma imkanı bulunmuştur. CNT, elektrot modifikasyonunda, sensör yüzeyinde oluşan aşırı gerilimi düşürmek, elektrotun yanıt süresini kısaltmak, reaksiyon şiddetini arttırmak gibi bir çok amaçla kullanılmaktadır (Rivas et al., 2007; Agui et al., 2008; Qian and Yang 2006; Wang, 2005; Erdem, 2007 (a); Erdem et al., 2009).

Son yıllarda sensör yüzeylerinin çeşitli nano malzemelerle modifikasyonu, analiz yöntemlerinin iyileştirilmesine olanak tanıyan önemli gelişmelerdendir. Çeşitli tekniklerle nükleik asitlerin nanopartikül yüzeyine tutturulması ve bunların elektrokimyasal sensör teknolojisinde kullanılmaları giderek yaygınlaşmaktadır (Wang et al., 1996; Ozsoz et al., 2003; Wang, 2002, 2005; Erdem et al., 2005 (a), 2006 (a), 2006 (b); Xue and Warshawsky., 2005; Erdem, 2007 (b); Stani and Girousi, 2008; Muti et al., 2011; Mertins et al., 2011; Kizek et al., 2012;).

2.4 Elektrokimyasal Biyosensör Uygulamaları ve Yeni Yaklaşımlar

Literatürde elektrokimyasal DNA biyosensörler ile ilgili çalışmalar incelendiğinde yapılan araştırmaların öncelikle modifiye edilmemiş yalın elektrot yüzeylerinde başladığı görülmektedir (Erdem, 1999(a); Erdem 1999(b); Erdem, 2011; Karadeniz et al., 2003; Stani and Girousi, 2008; Dogan-Topal and Ozkan, 2009, 2011; Guo et al., 2011; Ozkan et al., 2004 ;Ahmadi and Jafari, 2011).

Daha sonraki yıllarda ise bir yandan analiz metodlarının elektrokimyasal dinamikleri, kullanılan elektrotların yapıları, sisteme kazandırdıkları ve DNA tabanlı analiz mekanizmaları anlaşılırken diğer yandan orataya çıkan nonoteknolojik yapılar ile çalışmaları bu ikisinin kombinasyonuna doğru yöneldiği görülmektedir (Wang et al., 2011; Canavar et al., 2011; Li et al., 2005; Sheng et al., 2009; Wang, 2008; Siddiquee et al., 2012; Zhang et al., 2008; Erdem et al., 2009; Bian et al., 2011; Yang et al., 2011; Weber et al., 2011; Chen et al., 2005; Caliskan et al., 2009; Karadeniz et al., 2008; Wang, Y., 2008).

Literatürde yalın elektrot yüzeyinde yapılmış bir çok ilaç-DNA etkileşim analizine rastlamak mümkündür. 2001 yılında epirubicin ile yapılan çalışmada karbon pastası elektrot (CPE) kullanılmış, elektrot yüzeyine tutturulan çift sarmal ve tek sarmal DNA ile epirubicinin etkileşimi DPV ve CV teknikleri ile incelenmiştir. Bunlardan biri olan Karadeniz ve arkadaşlarının 2003 yılında yürüttükleri çalışmada LYC-DNA etkileşimi modifiye edilmemiş tek kullanımlık kalem grafit elektrot ve karbon pastası elektrot (CPE) yüzeyinde DPV tekniği ile incelemiştir. Çalışmada LYC için CPE yüzeyinde tayin sınırı 225 ng/ml ve PGE yüzeyinde 30.2 ng/ml bulunmuştur (Karadeniz et al., 2003).

Başka bir antikanser ilaç olan ve çalışmamızda da kullanılan MC daha önce Ozkan ve arkadaşları tarafından 2004 yılında yine modifiye edilmemiş karbon perde basklı elektrot (CSPE) ve CPE yüzeylerinde incelenmiştir. Çalışmada MC'nin DNA ile olan etkileşimi SWV, DPV teknikleri ile ölçülmüş ve CPE yüzeyinde MC için tayin sınırı 19 ng/ml ve CSPE yüzeyinde 33 ng/ml bulunmuştur (Ozkan et al., 2004).

Çizelge 2.1 Klasik Elektrokimyasal DNA Biyosensörün Uygulamaları

Analizlenecek madde	Kullanılan Yöntem ve Elektrot		Kaynak
	Yöntem	Elektrot	
EPR	DPV	CPE	Erdem and Ozsoz, 2001 (a)
MTC	DPV	CPE	Erdem, A. and Ozsoz, M., 2001, (b)
cis-bis(3-aminoflavone) dichloroplatinum(II) (cis-DDP)	DPV	PGE	Erdem et al., 2005 (b)
LYC	DPV	CPE, PGE	Karadeniz et al., 2003
MC	SWV, DPV	CSPE, CPE	Ozkan et al., 2004
Cu(I)	CV, DPV	CPE, HMDE	Stani and Girousi, 2008
Efavirenz	AdsDPV	PGE	Dogan-Topal et al., 2009
LPR	AdSDPV	PGE	Dogan-Topal and Ozkan, 2011
Tamoxifen	CV	CPE	Guo et al., 2011
Fenitrothion	CV		Ahmadi and Jafari, 2011
Bleomycin	EIS	PGE	Erdem and Congur, 2013

Nanopartiküllerin elektrokimyasal avantajının anlaşılmasının ardından, bu moleküllerin elektrokimyasal sensörlerle kombine edilmesi uzun sürememiştir. Çalışmalarda ilk akla gelen çeşitli nanopartiküller karbon pasta içine karıştırılarak sensöre etkisi incelenmesidir. Bu yöntemde elektrot modifikasyonu açısından pratik gibi görünse de CPE'nin her bir ölçümde tek tek hazırlanması başlı başına zor bir işlemdir (Brahman et al., 2012).

Çizelge 2.2 Nanomalzemelere Dayalı Elektrokimyasal DNA Biyosensörlerin Uygulamaları

Analizlenecek madde	Kullanılan Nanomalzeme	Kullanılan Yöntem ve Elektrot		Kaynak
		Yöntem	Elektrot	
5-FU, Vincristine, Adriamisin, MC	MWCNT	CV, HPLC	GCE	Chen et al., 2005
HBV DNA hibridizasyonu	MWCNT	DPV	PGE	Erdem et al., 2006, (a).
HBV DNA hibridizasyonu	MWCNT	DPV	SPE	Karadeniz et al., 2008
HBV DNA hibridizasyonu	CNT	DPV, EIS	PGE	Caliskan et al., 2009
DNR-DNA etkileşim	SWCNT	DPV, EIS	PGE	Erdem et al., 2009
RU	MWCNT, Fe ₃ O ₄ NP	DPV, CV	GCE	Bian et al., 2011
HBV DNA hibridizasyonu	GRPOx			Muti et al., 2011
MB	SWCNT, MWCNT	SWV	GCE	Yang et al., 2011
HBV DNA hibridizasyonu	AuNR			Congur et al., 2013
DNR	Au-MWCNT	EIS, DPV	GCE	Li et al., 2011
<i>Salmonella enterica</i>	SWCNT	EIS		Weber et al., 2011
HBV DNA hibridizasyonu	MWCNT		SPE	Li et al., 2012

Elektrot yüzeyinin modifikasyonunda çeşitli teknikler bulunmaktadır ve seçilecek yöntem elektrot yüzeyindeki aktif yük ile modifiye edilmek istenen

molekülde bulunan aktif elektronlar arasındaki uyuma bağlıdır. Grafit elektrot yüzeylerinin karbon nanotüplerle modifikasyonu buna güzel bir örnektir.

2009 yılında yapılan bir çalışmada tek kullanımlık kalem grafit elektrot yüzeyi karbon nanotüpler ile modifiye edilmiş ve bu elektrot DNA hibridizasyonunun analizinde kullanılmıştır (Caliskan et al., 2009).

Başka bir çalışmada ise GCE yüzeyi Tek duvarlı (SWCNT) ve çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) ile modifiye edilmiş ve yine DNA hibridizasyon analizinde kullanılmıştır (Yang et al., 2011). Elde edilen elektrotlar ise yine MC-DNA etkileşim analizinde kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalara bakıldığında karbon nanotüplerin yanı sıra farklı nano malzemelerinde kullanıldığı görülmektedir. Li ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada GCE yüzeyini altın nanopartikül ile modifiye ederek başka bir antikanser ilaç olan daunorubicin (DNR) DNA etkileşiminde kullanmıştır (Li et al., 2011).

Tıpkı nano partiküllerde olduğu gibi elektrot yüzeyinin yalnızca polimerler ile modifiye edilerek elektrokimyasal sensörlerde kullanılması da mümkündür.

Mandong ve arkadaşları 2007 yılına yaptıkları çalışmada CPE yüzeyi kitosan film ile modifiye edilmiş, hazırlanan elektrot indikatöre dayalı DNA hibridizasyon analizinde hepatit B virüsünün tayininde kullanılmıştır. Analizde bir hibridizasyon indikatörü olan matilen mavisi (MB) kullanılmış ve DPV tekniği ile ölçüm yapılmıştır (Mandong et al., 2007).

Yapılan tüm bu çalışmalarında yanında son yıllarda çeşitli nano malzemelerin farklı polimerlerle ile kombinasyonunun kullanılması da sıklıkla kullanılan bir yöntem olmuştur. Böylelikle bir malzemenin eksikliği diğeri ile giderilerek daha seçici, sensörler tasarlanması, daha hassas analizler yapılması hedeflenmiştir (Wang et al., 2011; Canavar et al., 2011; Li et al., 2005; Sheng et al., 2009; Wang, 2008; Siddiquee et al., 2012; Zhang et al., 2008; Erdem et al., 2009; Bian et al., 2011; Yang et al., 2011; Weber et al., 2011; Chen et al., 2005; Caliskan et al., 2009; Karadeniz et al., 2008; Wang, Y., 2008).

Çizelge 4.3 Polimer ve Polimer Nanomalzeme Karışımı ile Modifiye edilmiş Sensörlerin Kullanıldığı Elektrokimyasal DNA Biyosensörler Uygulamaları

Analizlenecek madde	Malzeme		Kullanılan Yöntem ve Elektrot		Kaynak
	Nanomalzeme	Polimer	Yöntem	Elektrot	
MC		Grafen oksit (GO)	DPV, EIS	PGE	Erdem et al., 2012(c)
MC		Kitosan/İyonik Sıvı	DPV, CV, EIS	PGE	Eksin et al., 2013
MB, HBV DNA hibridizasyonu		Kitosan	DPV	CPE	Mandong et al., 2007
MB	CNT	Kitosan	DPV, CV	GE	Li et al., 2005
MB	MWNTs, ZnO NP	Kitosan	DPV	GCE	Zhang et al., 2008
	Kitosan	MWNTs	EIS	GCE	Wang et al., 2011
MC	Sepiolit	CNT	DPV, EIS	PGE	Erdem et al., 2012(d)
HBV DNA hibridizasyonu	Kitosan	CNT	DPV, EIS	PGE	Erdem et al., 2012(a)
MC	SWCNT	PVF ⁺	DPV, CV, EIS	PGE	Canavar et al., 2011
	ZnO NP	Kitosan	CV	AuE	Siddiquee et al., 2012

Wang ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları çalışmada GCE elektrot yüzeyi kitosan ve MWCNT karşımı ile modifiye edilmiş ardından hazırlanan elektrot DNA tayininde kullanılmıştır. Bu çalışmada elektrot modifikasyonu ve DNA hibridizasyonu elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği ile gerçekleştirilmiştir (Wang et al., 2011).

Zhang ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları çalışmada ise yine GCE yüzeyi kitosan ve farklı nonomalzemeler ile modifiye edilmiştir. MWCNT'ün yanı sıra çinko oksit ZnO nanopartiküller de kullanılmış elde edilen elektrot MB yardımı ile DNA hibridizasyon analizinde kullanılmıştır (Zhang et al., 2008).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Cihazlar

Deneyler süresince hazırlık, ölçüm ve sonuçların değerlendirilmesi aşamalarında kullanılan cihaz, ekipman ve programlar:

Terazi (Mettler Toledo AB204-S)

pH-metre (Orion 420A)

Vorteks (Biosan V1)

Manyetik karıştırıcı (Biosan MS 3000)

Ultrasonik banyo (Bandelin Sonorex)

Ag/AgCl referans elektrot (BAS, Model RE-5B, W. Lafayette, ABD)

Platin tel (Yardımcı elektrot olarak kullanıldı)

Faraday kafesi (Eco Chemie, Hollanda)

Potansiyostat I (AUTOLAB-PGSTAT 302, GPES 4,9 ve FRA 2.0 yazılımlı; Eco Chemie, Hollanda)

Potansiyostat II (CH, Model 660 C ABD)

3.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Asetik asit (%99-100) (Merck)

Hidroklorik asit (%37) (Merck)

Sodyum Hidroksit (Merck)

Sodyum klorür (Sigma)

Potasyum fosfat (Riedel-de Haen)

Potasyum dihidrojen fosfat (Riedel-de Haen)

Trizma HCL (Sigma)

EDTA disodyum tuzu (Sigma)

Metilen klorid (Riedel Haen)

Vinilferrosen (Aldrich)

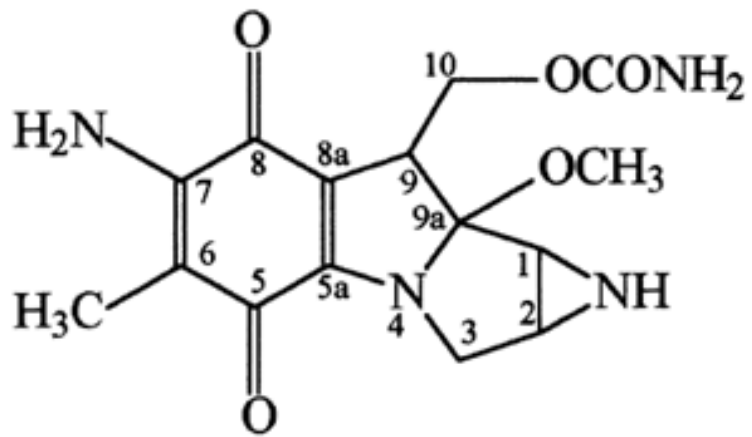
Mitomisin (Sigma)

Buza timüs bezinden elde edilen çift sarmallı DNA (dsDNA) (liyofilize toz şeklinde) (Sigma)

Karboksilik asitçe zenginleştirilmiş (% 80-90) tek duvarlı karbon nanotüpler (CNT; çap: 4-5 nm, uzunluk 500-1500 nm) (Aldrich)

Tüm çalışmalarda ultra saf su kullanıldı. Deneysel çalışmalar oda sıcaklığında ($25,0 \pm 0,5$) °C' de gerçekleştirildi.

3.2.1 Mitomisin C (MC)



Şekil 3.1 Mitomisin C'nin kimyasal yapısı (Perez et al., 1999)

Moleküler formül: $C_{15}H_{18}N_4O_5$

Molekül ağırlığı: 334,33 gr/mol

Kimyasal-fiziksel özellikleri: Beyaz veya renksiz katı, 360°C ergime noktası. Su içerisinde çözünabilirliği 8,43 gr/L

Farmakolojik Özellikleri: İntravenöz göz damlası olarak kullanılır. Alkilleyici etkisi sebebi ile bir çok kanser türünde kurduğu çapraz bağlar sayesinde DNA replikasyonunu önleyici ajan olarak kullanılır.

3.2.2 Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

3.2.2.1 Nükleik asit çözeltilerinin hazırlanışı

Çalışmamızda kullanılmak üzere seçilen nükleik asit olan buza timusundan elde edilen çift sarmal DNA (dsDNA) Sigma firmasından liyofilize toz halinde ticari olarak alındı. Stok dsDNA çözeltisi 1 mg/mL konsantrasyonda TE tampon çözeltisi (pH:8,00) içinde hazırlanıp dondurularak saklandı. Daha düşük konsantrasyondaki çözeltilerini hazırlamak için stok çözelti asetat tampon çözeltisi (pH:4,80) ile seyreltilti.

3.2.2.2 MC çözeltilerinin hazırlanışı

Çalışmamızda ilaç DNA etkileşimini incelemek üzere DNA hedefli ilaçlar arasından seçilen MC Sigma firmasından ticari olarak edildi. Stok MC çözeltisi ultra saf su içerisinde 1 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanıp derin dondurucu da saklandı. Daha seyreltik çözeltileri için hazırlamak için TBS tampon çözeltisi (pH:7,00) kullanıldı.

3.2.2.3 Tampon çözeltilerin hazırlanışı

Tüm tampon çözeltilerin hazırlanışı sırasında ultra saf su kullanıldı. Çözeltiler hazırlandıktan sonra buz dolabında muhafaza edildi.

0,50 M Asetat Tampon Çözeltisinin Hazırlanması (pH 4.8) (ABS)

0,50 M asetat tampon çözeltisinin hazırlanması için 57,8 mL derişik asetik asit çözeltisinin , bir miktar ultra saf su seyreltilti. Çözeltinin pH'sı 1 NaOH ile

4,8'e ayarlandıktan sonra içerisine 1,168 g NaCl eklenip yine ultra saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

0,05 M Fosfat Tampon Çözeltisinin Hazırlanması (pH 7,4) (PBS)

0,05 M fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması için 1,36 g KH_2PO_4 ve 6,96 g K_2HPO_4 ultra saf su içerisinde çözülür. 1N NaOH ya da 1N HCl ilavesiyle pH 7,4 e ayarlandı. İçerisine 1,168 g NaCl eklendikten sonra ultra saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

0,02 M Tris-HCl Tampon Çözeltisinin Hazırlanması (pH 7,0) (TBS)

0,02 M Tris-HCL tampon çözeltisinin hazırlanması için 3,152 g Trizma HCl ultra saf su içerisinde çözülür. Çözeltinin pH'sı 1 NaOH ile 4,8'e ayarlandıktan sonra içerisine 1,168 g NaCl eklenip yine ultra saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

0,01 M Tris-EDTA Tampon Çözeltisinin Hazırlanması (pH 8,0) (TE)

0,01 M Tris-EDTA tampon çözeltisi için 1,576 mg Tris-HCl ve 0,372 mg EDTA tartılıp ultra saf su içerisinde çözülür. Çözeltinin pH'sı pH metre yardımı ile 0,1 NaOH yada 0,1 M HCl kullanılarak 8,0 değerine ayarlanıp ultra saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

2,50 mM Redoks Probu Çözeltisinin Hazırlanması (0.1 M KCl içeren)

Redoks probu çözeltisi için 164,50 mg $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 208,13 mg $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ve 1,49 g KCl 200 mL ultra saf su içerisinde çözülerek 1:1 oranında 2,50 mM $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + \text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6]$ çözeltisi hazırlandı. Çözelti her analiz periyodu için yeniden hazırlanıp taze olarak kullanıldı.

3.2.2.4 Diğer çözeltilerin hazırlanması

Poly(viniferrosen) (PVF) ve Karbo Nanotüp / Poly(viniferrosen) (CNT-PVF) polimerizasyon çözeltilerin hazırlanması.

Poli(vinilferrosen) (PVF) çözeltisi daha önce literatürde tarif edildiği şekilde (Kuralay et al., 2008) metilen klorid/tetra-n-butil amonyum perklorat (TBAP) içerisinde 1,0 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde vinil ferrosenden (PVF+)

yola çıkarak hazırlandı. Benzer şekilde karbon nanotüp/polivinilferrosen (CNT/PVF) karışımı 1,0 mg/mL PVF+ çözeltisi içerisinde 3.0 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde duvarlı karbon nanotüpler (CNT) eklenerek hazırlandı.

Kitosan ve Kitosan / Tek Duvarlı Karbon Nanotüp (Kitosan/CNT) çözeltilerin hazırlanışı

Çalışmamızın ikinci kısmında elektrot modifikasyonunda kullanılmak üzere Kitosan ve Kitosan/Tek Duvarlı Karbon Nanotüp (Kitosan/CNT) çözeltileri literatürdeki benzer çalışmalar uygun olarak hazırlandı (Erdem et al., 2012 (a); Vural et al., 2010). 1 litre % 1'lik asetik asit çözeltisi içine 5 g kitosan ilave edilip 1 saat süre ile oda sıcaklığında ultrasonik banyo içerisinde çözüldü. Elde edilen 5,0 mg/mL konsantrasyondaki Kitosan çözeltisi hem elektrot modifikasyonunda hemde Kitosan/CNT çözeltisinin hazırlanmasında kullanıldı. Hazırlanan 1 L kitosan çözeltisi içerisinde 3 g CNT ilave edilerek 1 saat süre ile oda sıcaklığında ultrasonik banyo içerisinde çözüldü (Vural et al., 2010, Erdem et al., 2012 (a))

3.3 Kullanılan yöntem

Çalışmamız süresince elektrot aktivasyonunda, modifikasyonunda, elektrot yüzeyine DNA veya ilaç tutturulmasında ve etkileşim prosesüründe, ölçüm işlemlerinin tümü boyunca daha önce literatürde anlatılan yöntemlerden yola çıkılmıştır (Erdem, A. and Ozsoz, M., 2001 b; Ozsoz et al., 2002; Palecek, 1988; Vural et al., 2010; Vural et al., 2010; Kuralay et al., 2008).

3.3.1 Kullanılan elektrotların hazırlanışı

Çalışmamızda kullanılan elektrotlar; literatüre uygun şekilde ön hazırlık aşamasından geçirilmiştir (Karadeniz et al., 2003). Bu aşamanın ardında literatürde daha önce yapılan çalışmalardan yola çıkılarak çeşitli modifikasyonlardan geçirilmiştir (Kuralay et al., 2008, 2009; Erdem et al., 2012 (a)).

3.3.1.1 Tek kullanımlık kalem grafit (PGE) elektrotların hazırlanışı

Çalışmamızda kullanılan tek kullanımlık kalem grafit elektrotlar Tombo marka kalem uçlarının 3,0 cm uzunluğunda kesilmesi ile hazırlandı (Karadeniz et

al., 2003). Kesilen elektrotlar asetat tampon çözeltisi (ABS) içerisinde üçlü elektrot sisteminde 30 saniye süre ile +1,40 V uygulanarak aktive edildi. Elektrotlar elektro kimyasal hücre içerisine yerleştirilirken yalnızca 1 cm'lik kısmı çözelti içinde olacak şekilde ayarlandı.

3.3.1.2 PVF ve CNT/PVF modifiye elektrotların potansiyel kontrollü kılometri ile hazırlanışı

Çalışmamızda kullanılan PVF ve CNT/PVF modifiye elektrotlar Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümünde daha önce literature belirtildiği şekilde Kuralay ve arkadaşları tarafından hazırlandı (Kuralay, et al., 2008, 2009).

PVF ve CNT/PVF modifiye elektrotlar aktive edilmemiş yalın tek kullanımlık kalem grafit elektrotların daha önce hazırlanan PVF ve CNT/PVF polimerizasyon çözeltilerin içinde +0,7 V'da elektro yükseltgenmesi ile Hacettepe Üniversitesi Kimya bölümünde hazırlandı. Bu amaçla vinilferrosen ve CNT vinilferrosen çözeltisi içinde üçlü elektrot sistemine yerleştirilen PGE çalışma elektrodu yüzeyine elektrokimyasal polimerizasyon ile kaplandı. Elektrokimyasal işlemlerden önce çözeltiler saf azot gazı geçirilerek oksijeni uzaklaştırıldı. Film kalınlığı elektroprespitasyon sırasında geçen yük miktarının kontrolü sayesinde sabit tutuldu. Bu kalınlık literatürde polimerik film kalınlığı için tavsiye edilen değerlere uygun seçilmiştir ve 5,0 mC'uk yük geçecek şekilde sistem tasarlandı (Kuralay, et al., 2008, 2009).

3.3.1.3 Kitosan ve Kitosan/Tek duvarlı karbon nanotüp (Kitosan/CNT) modifiye tek kullanımlık kalem grafit elektrotların (PGE) hazırlanması

Çalışmamızda kullanılacak olan elektrotlar için daha önce tarif edildiği şekilde hazırlanan kitosan ve Kitosan/CNT çözeltilerinden 110 μ L' içeren viallere daldırılan aktive edilmiş PGE'ler bir saat süre ile modifiye olması için bekletildi. Bu sürenin ardından her bir elektrot 10 sn süre ile ABS içerisine daldırılarak yıkandı (Vural et al., 2010, Erdem et al., 2012 (a)).

3.3.2 Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Karakterizasyonunun

3.3.2.1 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerin elektrokimyasal karakterizasyonu

PVF ve CNT/PVF modifiye elektrotların elektrokimyasal davranışını incelemek amacı ile dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve diferansiyel puls voltametrisi (DPV) teknikleri kullanıldı.

PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerin elektrokimyasal davranışının dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile incelenmesi

Dönüşümlü voltametri ölçümleri 0.0 V ie 1.0 V arasında Ag/AgCl referans elektroda karşı 100 mV/s tarama hızında gerçekleştirildi.

PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerin elektrokimyasal davranışının elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği ile incelenmesi

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ölçümleri, üçlü elektrot sistemi içerisinde, açık devre potansiyelinde (+ 0,23 V) Ag/AgCl referans elektroda karşı 10^5 - 10^{-1} Hz frekans aralığında 10 mV dalga boyunda redoks probu çözeltisi içinde gerçekleştirildi.

PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerin elektrokimyasal davranışının diferansiyel puls voltametrisi (DPV) tekniği ile incelenmesi

PVF ve CNT/PVF modifiye elektrotların yüzeyine dsDNA ayrı ayrı immobilize edildi. Bu amaçla PVF ve CNT/PVF modifiye elektrot, içerisinde 200 µg/mL konsantrasyondaki dsDNA çözeltisi bulunan viallere daldırılıp 60 dakika bekletildi. Bu sürenin ardından elektrotlar 10 saniye süre ABS içerisinde yıkandı. İmmobilizasyon süresinin ardından elektrotlar 0,00 V ile +1,40 V arasında 50 mV tarama hızıyla ABS içerisinde ölçüldü. Guanine ait yükseltgenme sinyali incelendi.

3.3.2.2 PGE, Kitosan, CNT ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinin elektrokimyasal karakterizasyonu

Çalışmamızda hazırlanan Kitosan/CNT modifiye elektrotların yüzey karakterizasyonunun belirlenmesi amacı ile Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve elektrokimyasal davranışını incelemek amacı ile dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) teknikleri kullanıldı.

PGE, Kitosan ile modifiye edilmiş PGE, CNT modifiye PGE ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile karakterizasyonu

Modifiye edilmiş ve edilmemiş elektrotların mikroskobik karakterizasyonu Quanta 250 FEI Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Tokyo, Japonya) ile İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsünde gerçekleştirildi. Bu amaçla hazırlanan elektrotlar 5,0 ile 10,0 kV arası değişen farklı hızlandırma potansiyellerinde 10 µm, 2 µm ve 500 nm olmak üzere üç farklı çözünürlükte görüntülendi.

PGE, Kitosan ile modifiye edilmiş PGE, CNT modifiye PGE ve Kitosan/CNT modifiye PGE'lerine elektrokimyasal davranışının dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile incelenmesi

Elektrokimyasal karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi amacı ile daha önce hazırlanmış modifiye edilmemiş PGE, CNT, Kitosan ve Kitosan/CNT modifiye PGE'ler kullanıldı. Her bir elektrot ayrı ayrı 0,1 M KCl içeren 2 mM $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ (1:1) çözeltisinde üçlü elektrot sistemine yerleştirilerek 25 mV adım potansiyeli, 100 mV/s tarama hızında, +0,4 V'dan +1,2 V'a tarama yapılarak ölçümler yapıldı.

PGE, Kitosan ile modifiye edilmiş PGE, Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinin karakterizasyonunun ve Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) tekniği ile incelenmesi

Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) tekniği çalışmamızda hem elektrot karakterizasyonu hemde ilaç-DNA ekleşiminin incelenmesinde kullanıldı. Elektrot karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi amacı ile modifiye edilmemiş PGE, Kitosan ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyleri elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği ile Redoks probu çözeltisi içinde ölçüldü.

EIS ölçümleri 0,1 M KCl içerisinde hazırlanan 2,5 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ / $K_4[Fe(CN)_6]$ (1:1) karışımı içeren redoks probu çözeltisi içerisinde, 10^5 Hz ile 10^1 Hz arasında düzenli olarak artan frekansta + 0,23 V açık devre potansiyelinde Ag/AgCl referans elektroda karşı faraday kafesi içerisinde gerçekleştirildi. Frekans aralığı 98 logaritmik eşit aralığa bölünerek uygulandı.

3.4 MC-DNA Etkileşiminin Modifiye Yüzeylerde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi

3.4.1 MC-DNA etkileşimin CNT/PVF modifiyePGE yüzeyinde kullanılarak elektrokimyasal olarak incelenmesi

Elektrokimyasal karakterizasyonu tamamlanan CNT/PVF modifiye elektrot, ilaç DNA etkileşimindeki uygulanabilirliğinin test edilmesi amacı ile MC DNA etkileşiminin tayininde kullanıldı.

3.4.1.1 MC DNA etkileşiminin DPV tekniği ile incelenmesi

MC DNA etkileşiminin tayini için CNT/PVF modifiye elektrot içerisinde 110 μ L 200 μ g/mL dsDNA çözeltisi bulunan viallere daldırılıp 60 dakika bekletildi. Bu sürenin ardından DNA immobilize edilmiş elektrot TBS içerisinde 20 μ g/mL konsantrasyonda hazırlanmış MC çözeltileri içerisine daldırılıp soğuk ortamda 7,5 dakika bekletildi.

Elektrot bu süre sonunda TBS içerisinde 10 saniye süre ile yıkandı. Etkileşimin tespiti, etkileşim öncesi ve sonrasında DPV tekniği ile guanine ait elektrokimyasal yükseltgenme sinyalinin, ABS içerisinde +0,00 V'tan +1,40 V'a 50 mV tarama hızıyla ölçülmesi ile gerçekleştirildi.

3.4.1.2 MC konsantrasyonunun yanıt etkisi

MC konsantrasyonunun yanıt etkisinin araştırılması amacı ile 0-40 μ g/mL aralığındaki değişen konsantrasyonlarında hazırlanan MC çözeltilerinin elektrot yüzeyinde 200 μ g/mL dsDNA ile etkileşimi incelendi.

3.4.1.3 MC etkileşim süresinin yanıt etkisinin incelenmesi

Etkileşim süresinin yanıt etkisinin incelenmesi amacı ile 20 µg/mL MC, 200 µg/mL dsDNA ile 0-30 dakika arasında değişen sürelerde elektrot yüzeyinde etkileşime sokulduktan sonra DPV tekniği ile ölçüldü.

3.4.2 MC-DNA etkileşimin Kitosan/CNT modifiye PGE kullanılarak elektrokimyasal olarak incelenmesi

Tüm çalışmalar oda sıcaklığında (25,0 ± 0,5 °C) yeni hazırlanmış çözeltiler ve Kitosan/Karbon Nanotüp (Kitosan/CNT) modifiye tek kullanımlık kalem grafit elektrot (PGE) ile gerçekleştirildi.

3.4.2.1 PGE, Kitosan ile modifiye edilmiş PGE ve Kitosan/CNT ile modifiye PGE yüzeyine DNA tutturulması ve elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi

Hazırlanan elektrotların DNA çalışmalarında kullanılabilirliğinin araştırılması amacı ile öncelikle modifiye edilmemiş yalın elektrot, Kitosan ve Kitosan/CNT ile modifiye PGE yüzeylerine ayrı ayrı DNA immobilize edilerek DPV tekniği ile ölçüldü.

Bu amaçla daha önce belirtildiği gibi hazırlanan kalem elektrotlar 110 µL, 50 µg/mL dsDNA bulunan vialler içerisinde 1 saat süre ile bekletildi. Bu süre sonunda elektrotlar ABS içerisinde 10 saniye süre ile yıkandı ve DPV tekniği ile yine ABS içerisinde, +0,00 V'tan +1,40 V'a 50 mV tarama hızıyla ölçüldü.

3.4.2.2 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine DNA konsantrasyon yanıtı olan etkisinin incelenmesi

DNA konsantrasyonunun yanıt etkisinin araştırılması amacı ile 0-60 µg/mL aralığındaki değişen konsantrasyonlarında hazırlanan dsDNA çözeltilerinin Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine immobilize edilerek DPV tekniği ile ABS içerisinde, +0,00 V'tan +1,40 V'a 50 mV tarama hızıyla ölçüldü.

3.4.2.3 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine MC konsantrasyon yanıtı olan etkisinin incelenmesi

Yapılan karakterizasyon çalışmaları bize Kitosan/CNT modifiye elektrodun çalışmamızın ilk kısmında kullandığımız polimer karbon nanotüp karışımından farklı olarak daha geniş bir aralıkta ölçüm yapma imkânı sunduğu görülmüştür. Bu nedenle çalışmamızın bu kısmında DNA sinyalinin yanı sıra MC'nin elektrokimyasal sinyalinin de görüntülenmesi hedeflenmiştir.

Bu amaçla 0 ile 50 µg/mL arasındaki değişen konsantrasyonlardaki MC Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine tutturuldu. TBS içerisinde hazırlanan değişik konsantrasyonlardaki MC çözeltilerinden 110 µL haciminde alınarak viallere koyuldu. Modifiye elektrotlar bu vialler içerisine konularak 1 saat süre ile bekletildi. Bu süre sonunda elektrotlar TBS içerisinde 10 saniye süre ile yıkandı ve DPV tekniği ile ABS içerisinde, +0,00 V'tan +1,40 V'a 50 mV tarama hızıyla ölçüldü.

3.4.2.4 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine MC-DNA etkileşiminin ve etkileşim süresinin yanıtı etkisinin incelenmesi

Etkileşim süresinin yanıtı olan etkisini incelemek amacı ile Kitosan/CNT modifiye elektrot kullanılarak ayrı ayrı optimizasyonları yapılan MC ve DNA'nın elektrot yüzeyinde etkileşimi girmesi sağlanarak DPV tekniği ile ölçümleri yapıldı.

3.4.2.2'de anlatıldığı şekilde Kitosan/CNT modifiye elektrota 50 µg/mL DNA immobilize edildikten sonra içerisinde 40 µg/mL MC bulunan vial içerisine 7,5 dakika, 15 dakika ve 30 dakika süre ile daldırılarak ilacın DNA ile etkileşime girmesi sağlandı. Etkileşim süresinin ardından elektrotlar 10 saniye süre ile TBS ile yıkanarak DPV tekniği ile ABS içerisinde, +0,00 V'tan +1,40 V'a 50 mV tarama hızıyla ölçüldü.

Çalışmamızın bu kısmında etkileşim tayini hem guanin hem MC sinyalinin etkileşim öncesi ve sonrasında yapılan ölçümleri üzerinden tayin edildi. Her bir etkileşim süresi için etkileşim öncesi ve sonrasında MC ve guanin sinyalleri DPV tekniği ile ABS içerisinde, +0,00 V'tan +1,40 V'a 50 mV tarama hızıyla ölçüldü.

3.4.2.5 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde MC-DNA etkileşiminin Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) tekniği ile incelenmesi

Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) tekniği çalışmamızın bu kısmında hem elektrot karakterizasyonu hemde ilaç-DNA etkileşiminin incelenmesinde kullanıldı.

Etkileşimin incelenmesi amacı ile Kitosan/CNT modifiye elektrotta 50 µg/mL konsantrasyonda ABS içerisinde hazırlanmış dsDNA ile 3.4.2.3'te anlatıldığı gibi immobilize edildi ve elektrot EIS tekniği ile ölçüldü. Ölçülen bu elektrot yüzeyindeki DNA, yine 3.4.2.5'te anlatıldığı şekilde 40 µg/mL MC ile etkileştirildi ve EIS tekniği ile ölçüldü.

EIS ölçümleri 0,1 M KCL içerisinde hazırlanan 2,5 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ / $K_4[Fe(CN)_6]$ (1:1) karışımı içeren redoks probu çözeltisi içerisinde, 10^5 Hz ile 10^{-1} Hz arasında düzenli olarak artan frekansta + 0,23 V açık devre potansiyelinde Ag/AgCl referans elektroda karşı faraday kafesi içerisinde gerçekleştirildi. Frekans aralığı 98 logaritmik eşit aralığa bölünerek uygulandı.

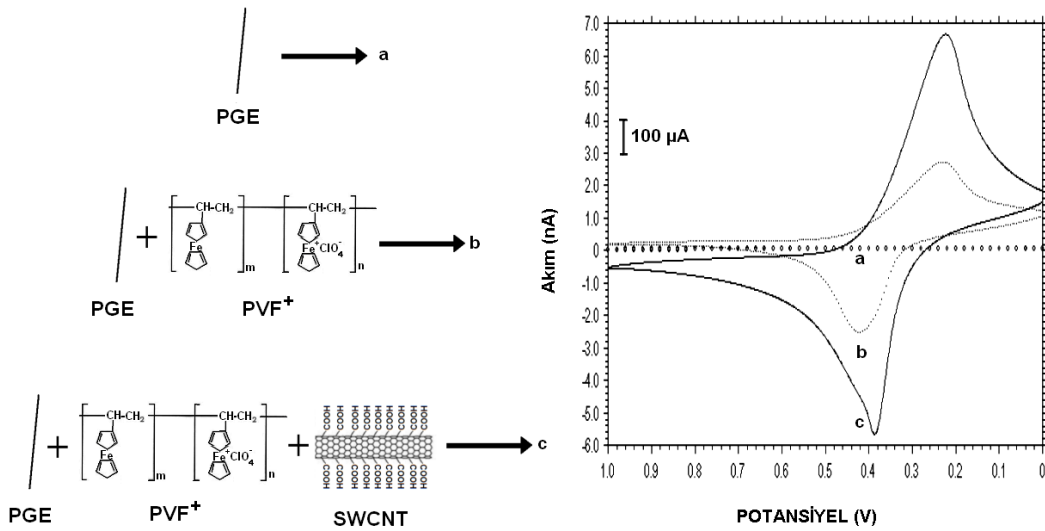
4. BULGULAR

4.1 MC-DNA Etkileşiminin PVF ve CNT/PVF Modifiye PGE Yüzeylerinde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Yönelik Çalışmaya İlişkin Bulgular

4.1.1 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerine elektrokimyasal davranışının incelenmesine ait bulgular

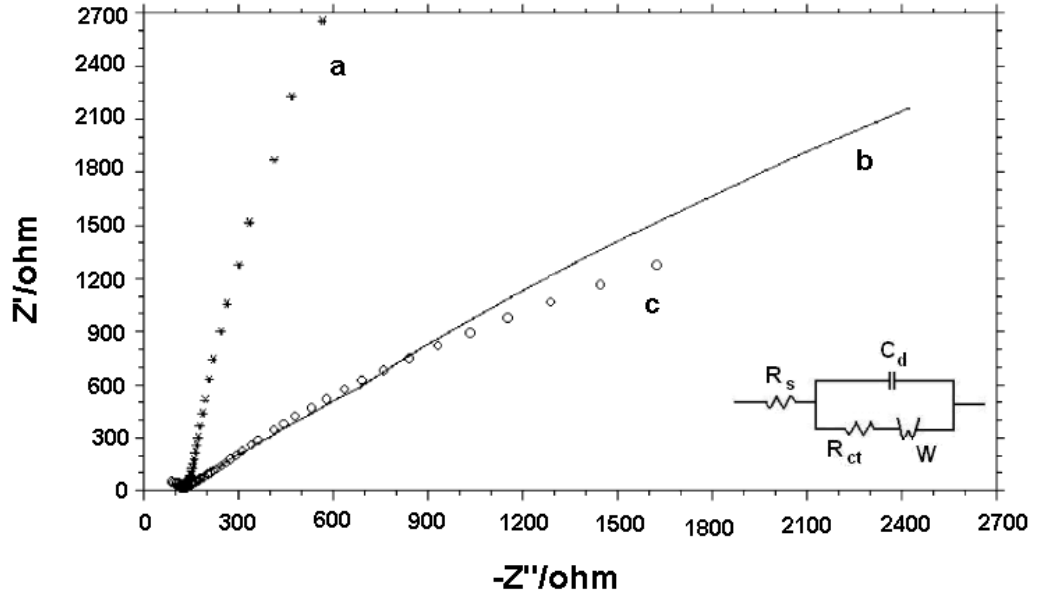
Yöntem, 3.3.2.'de anlatıldığı gibi yapılan analizlerden elde edilen CV, EIS ve DPV sonuçlar sırası ile Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'te gösterildi.

4.1.1.1 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerin elektrokimyasal davranışının dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile incelenmesine yönelik bulgular



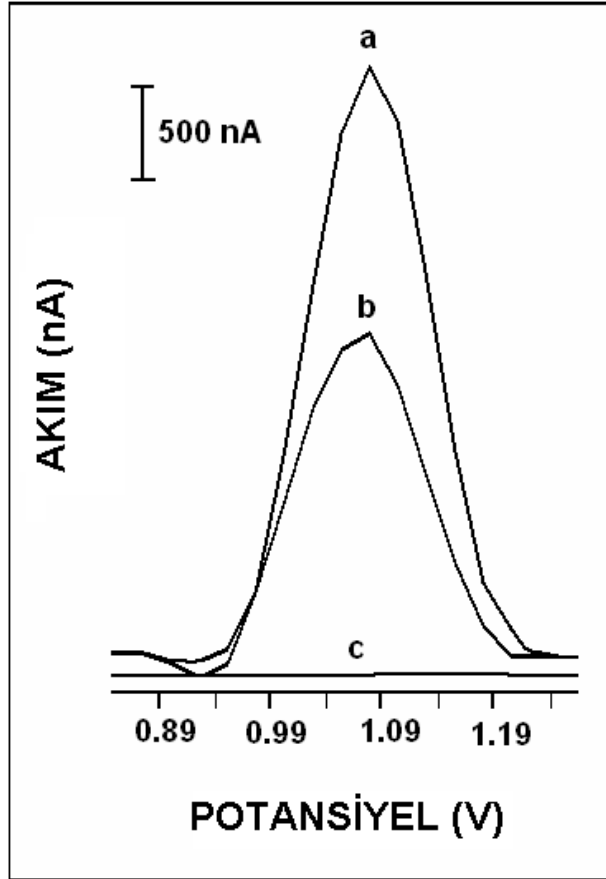
Şekil 4.1 Deneysel şema ile birlikte (a) modifiye edilmemiş, (b) PVF modifiye ve (c) CNT/PVF modifiye PGE'ye ait dönüşümlü voltametri (CV) (0,1 M NaClO₄ içeren PBS içerisinde 0,0 V dan + 1,0 V'a, Ag/AgCl elektroda karşı 100 mV/s tarama hızında) ölçümlerine ait voltamogramlar

4.1.1.2 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerin elektrokimyasal davranışının elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği ile incelenmesine yönelik bulgular



Şekil 4.2 Elektrokimyasal empedans spektroskopisi tekniği ile ölçülerek elde edilmiş (a) modifiye edilmemiş, (b) PVF modifiye ve (c) CNT/PVF modifiye elektrotlara ait Nyquist diyagramları. Empedans ölçümleri 2,5 mm $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ (1:1) karışımı içeren 0.1 M KCl içerisinde gerçekleştirilmiştir. Figür içinde görülen eşdeğer devre ise empedans verilerinin modellenmesinde kullanılmaktadır. R_s çözelti direnci, C_d elektrot çözelti ara yüzeyindeki boşlukta oluşan kapasitans şarjı, R_{ct} elektrot çözelti ara yüzeyindeki elektron transfer direnci ve W elektrot yüzeyine doğru gerçekleşen kütle aktarımına bağlı olarak Warburg empedansını temsil etmektedir.

4.1.1.3 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerin elektrokimyasal davranışının diferansiyel puls voltametrisi (DPV) tekniği ile incelenmesine yönelik bulgular

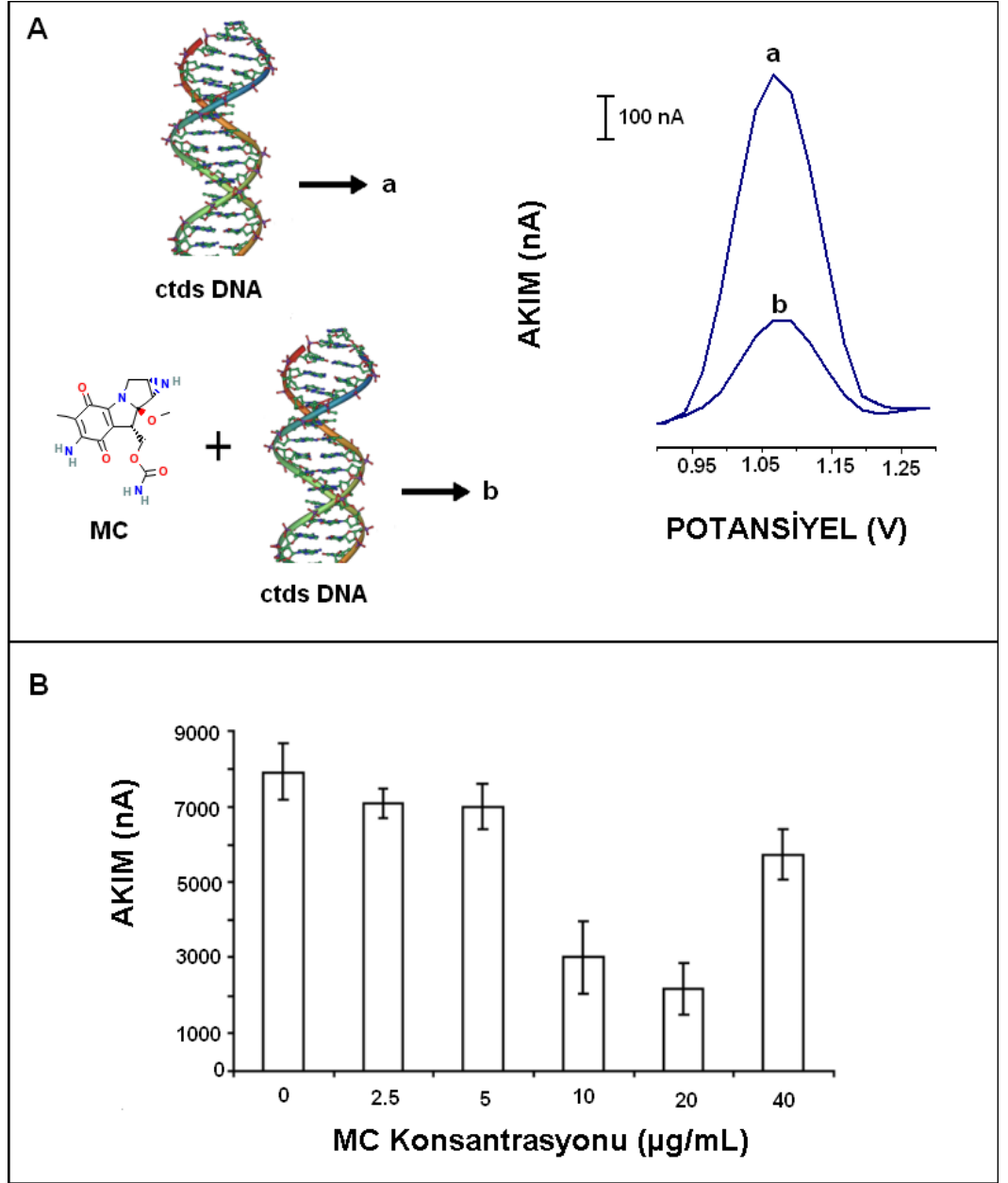


Şekil 4.3 Temsili voltamogram CNT/PVF ve PVF modifiye PGE yüzeylerinde 1 saat süre ile 500 $\mu\text{g/mL}$ dsDNA immobilize edildikten sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyallerini göstermektedir. (a) CNT/PVF modifiye, (b) PVF modifiye PGE. (c) kontrol çalışması olarak DNA immobilize edilmemiş CNT/PVF ve PVF modifiye PGE'lere ait sinyal

4.1.2 MC ile DNA etkileşimin CNT/PVF modifiyePGE yüzeyinde elektrokimyasal olarak incelenmesine ait bulgular

4.1.2.1 MC DNA etkileşimin DPV tekniği ile incelenmesi ve MC konsantrasyonu değişiminin yanıtı etkisinin araştırılmasına yönelik bulgular

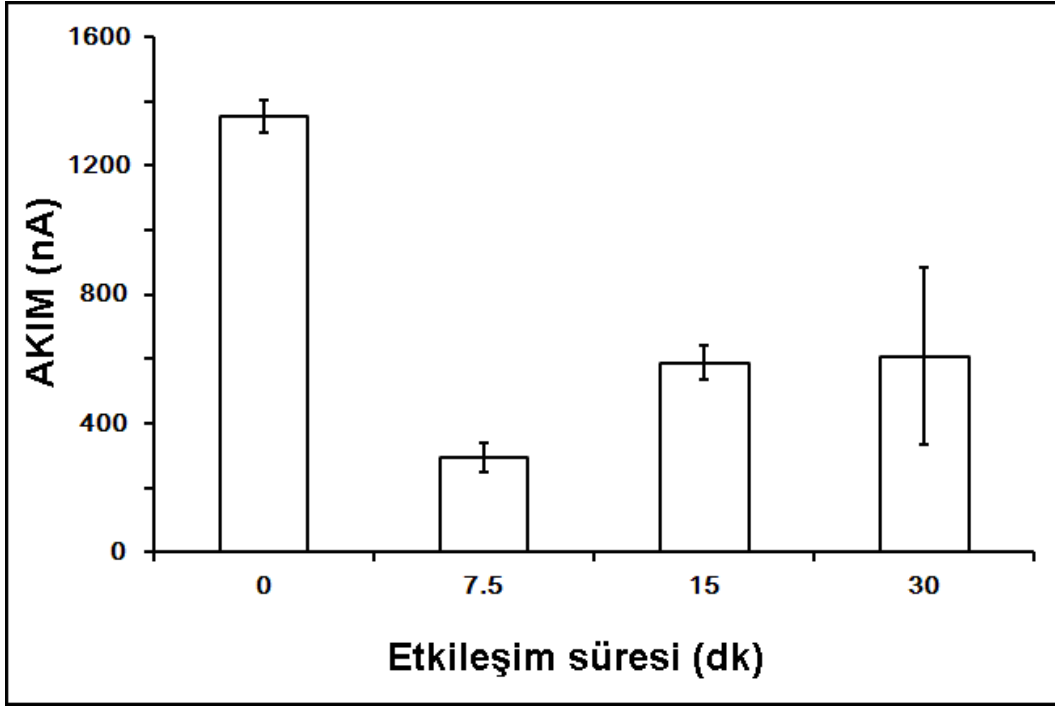
Yöntem, 3.4.1.1 ve 3.4.1.2.'de anlatıldığı gibi yapıldı. CNT/PVF yüzeyinde gerçekleştirilen MC DNA etkileşimi, Şekil 4.4'te gösterildi.



Şekil 4.4 (A) CNT/PVF modifiye PGE yüzeyinde 20 µg/ mL MC ile 200 µg/mL dsDNA'nın (a) etkileşim öncesi, (b) etkileşim sonrasında yapılan DPV ölçümlerinde elde edilen guanin yükseltgenme sinyallerine ait temsili voltamogramlar. (B) CNT/PVF modifiye PGE yüzeyinde 0 ile 40 µg/mL arası değişen konsantrasyonlarda MC ile 200 µg/mL dsDNA'nın etkileşimi sonrasında ölçülen guanin yükseltgenme sinyaline ait ortalama değerlerin (n=3) bulunduğu histogram

4.1.2.2 MC'nin etkileşim süresinin yanıtı etkisinin incelemesiye yönelik bulgular

Yöntem 3.4.1.3'de anlatıldığı gibi yapıldı. 20 µg/mL konsantrasyondaki MC, 200 µg/mL konsantrasyondaki dsDNA ile 0-30 dakika arasında değişen sürelerde etkileşime sokulduktan sonra DPV tekniği ile ölçüldü. Elde edilen histogram Şekil 4.5'te gösterildi.

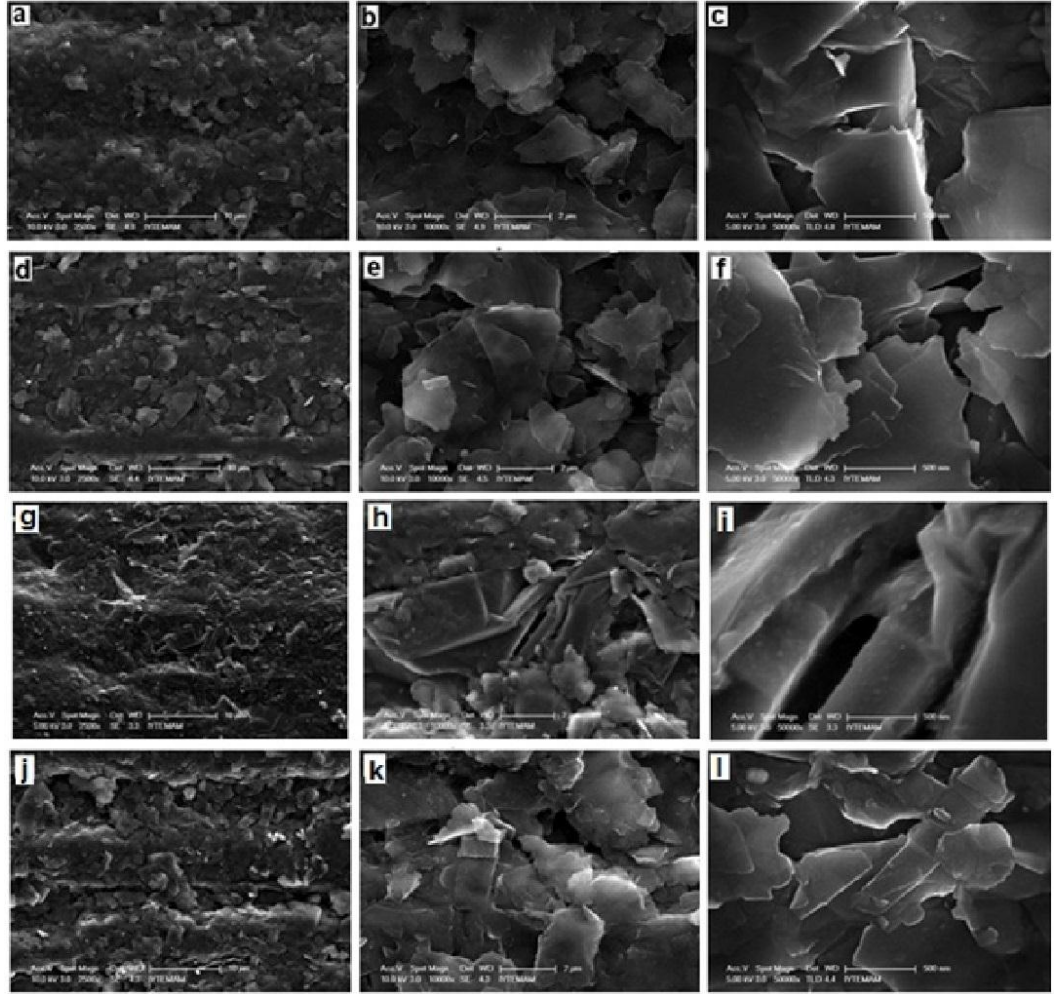


Şekil 4.5 CNT/PVF modifiye PGE yüzeyinde 20 mg/mL MC ile 200 mg/mL dsDNA etkileşiminde etkileşim süresinin guanin sinyaline etkisini gösteren histogram (n=3)

4.2 MC-DNA Etkileşiminin Kitosan ve Kitosan/CNT ModifiyePGE Yüzeylerinde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Yönelik Çalışmaya İlişkin Bulgular

4.2.1 Modifiye edilmemiş PGE, Kitosan, CNT, ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile karakterizasyonuna ilişkin bulgular

Yöntem 3.3.2.2 'de anlatıldığı gibi yapıldı. PGE, Kitosan, CNT ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinin mikroskobik karakterizasyonu SEM ile gerçekleştirildi ve elde edilen görüntüler Şekil 4.6'da gösterildi.

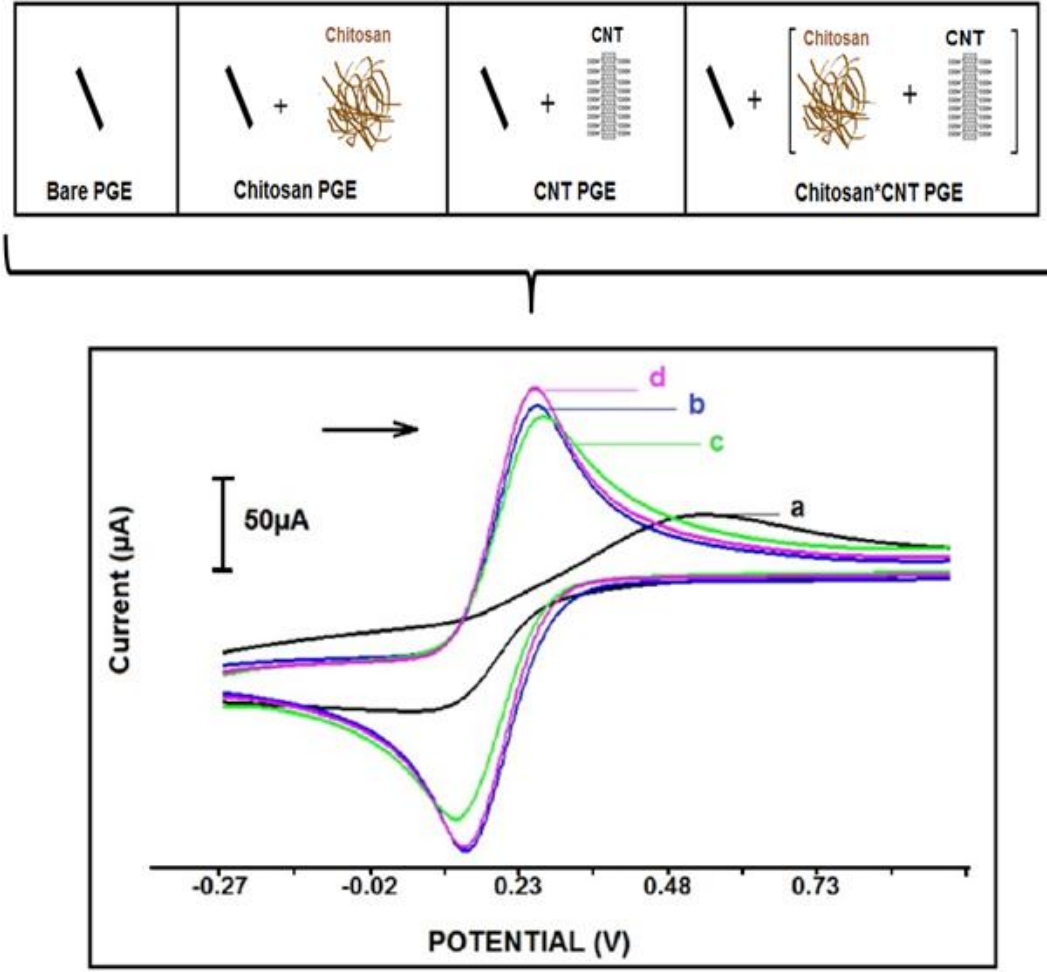


Şekil 4.6 5,0 ile 10,0 kV arasında değişen hızlandırma potansiyellerinde, 10 μm , 2 μm ve 500 nm büyüklüklerde (a-c) modifiye edilmemiş PGE, (d-f) Kitosan modifiye PGE, (g-i) CNT modifiye PGE ve (k-l) Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinden elde edilen SEM görüntüleri

4.2.2 Kitosan/CNT modifiye PGE’lerin elektrokimyasal davranışının incelenmesine ait bulgular

4.2.2.1 Modifiye edilmemiş PGE, Kitosan, CNT, ve Kitosan/CNT modifiye PGE dönüşümlü voltametri ile karakterizasyonu

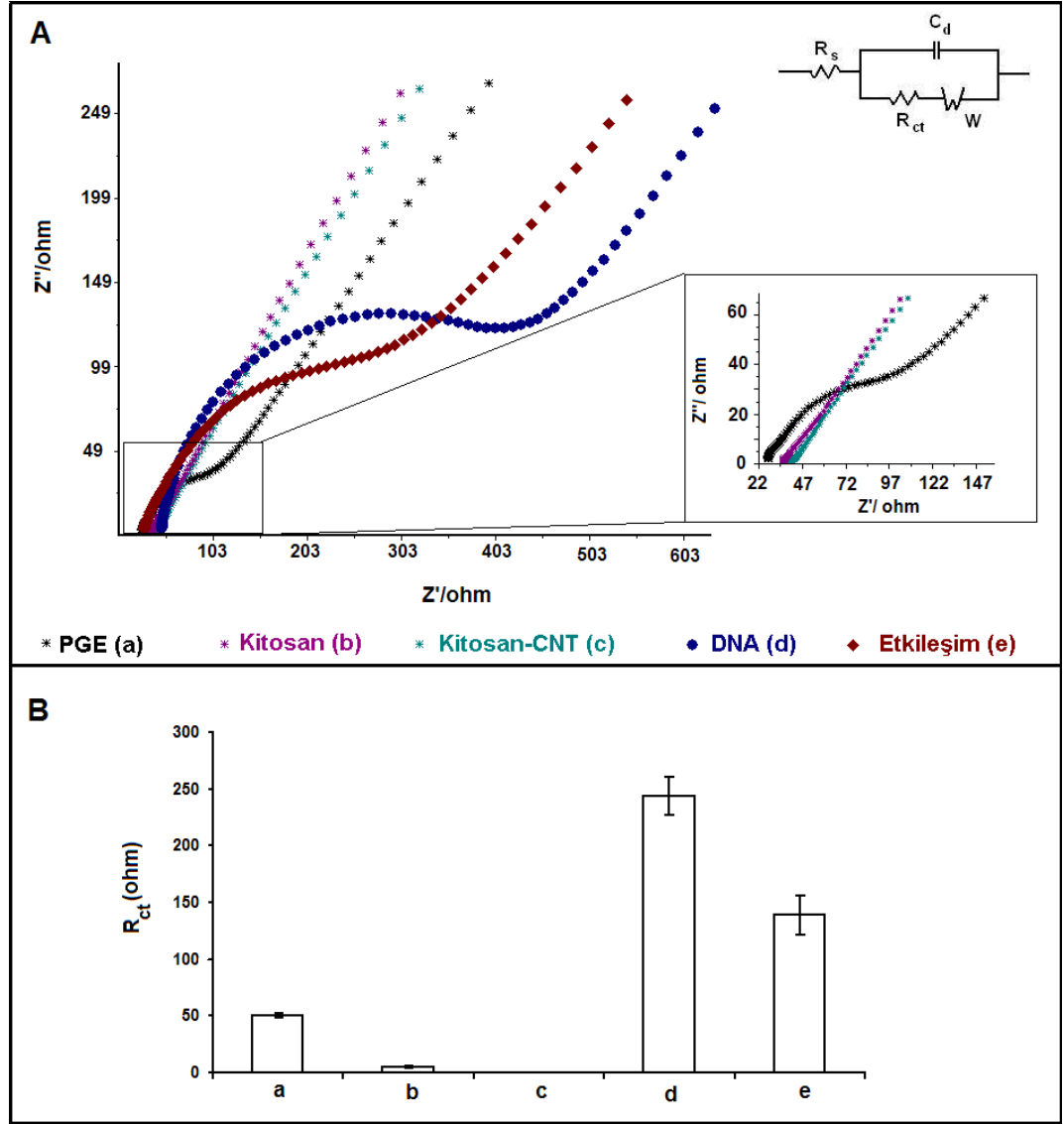
Yöntem 3.3.2.2 ‘de anlatıldığı gibi yapıldı. Deneysel şema ile birlikte PGE, Kitosan, CNT ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinden elde edilen CV sonuçları Şekil 4.7’de gösterildi.



Şekil 4.7 Deneysel şema ile birlikte modifiye edilmemiş (a) PGE, (b) Kitosan modifiye PGE, (c) CNT modifiye PGE ve (d) Kitosan/CNT modifiye PGE'ye ait dönüşümlü voltametri (CV) (0,1 M KCl içeren 2 mM $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ (1:1) içerisinde, Ag/AgCl elektroda karşı, 100 mV/s tarama hızında, +0.4 'den +1.2 V'a) ölçümlerine ait voltamogramlar

4.2.2.2 PGE, Kitosan ile modifiye edilmiş PGE, Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinin karakterizasyonunun ve MC-DNA etkileşiminin elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği ile incelenmesine ilişkin bulgular

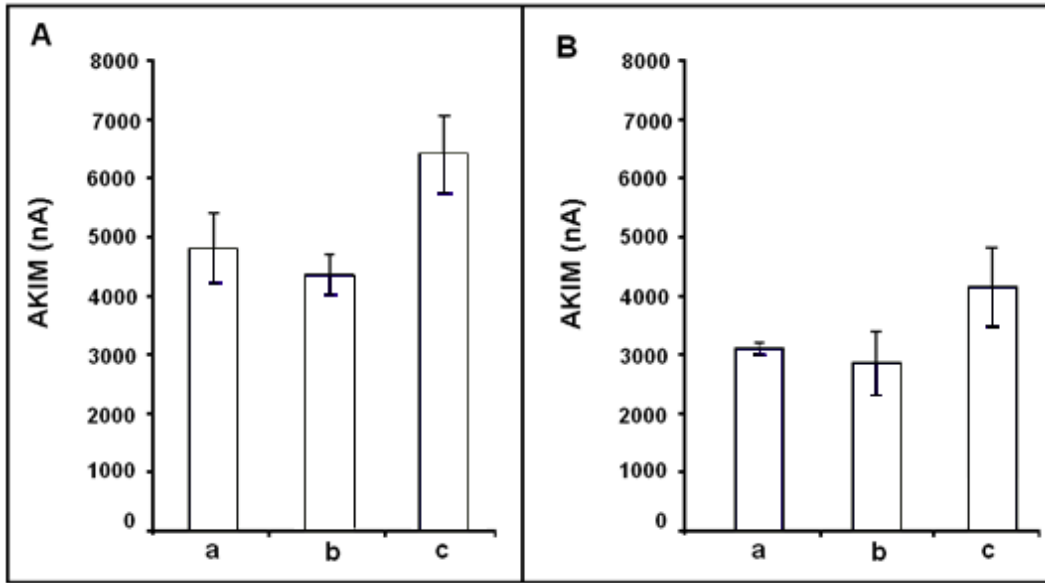
Yöntem 3.3.2.2 ve 3.4.2.5 'de anlatıldığı gibi yapıldı. Modifiye edilmemiş PGE, Kitosan ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyleri yalın halde ve Kitosan/CNT modifiye elektroda 50 µg/mL dsDNA immobilize edildikten sonra ve 40 µg/mL MC ile etkileştirdik sonra yapılan 4 ayrı EIS ölçümüne ait ortalama değerler Şekil 4.8'deki histogramlarda görülmektedir.



Şekil 4.8 (A) (a) Modifiye edilmemiş PGE, (b) Kitosan ile modifiye edilmiş PGE ve (c) Kitosan/CNT ile modifiye edilmiş PGE, Kitosan/CNT PGE yüzeyinde (d) 50 $\mu\text{g/mL}$ dsDNA immobilize edildikten sonra ve (e) 40 $\mu\text{g/mL}$ MC ile etkileştikten sonra elde edilen Nyquist diyagramları. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ölçümleri 2,5 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ / $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (1:1) karışımı içeren 0.1 M KCl içerisinde gerçekleştirilmiştir. Figür içinde görülen eşdeğer devre ise empedans verilerinin modellenmesinde kullanılmaktadır. R_s çözelti direnci, C_d elektrot çözelti ara yüzeyindeki boşlukta oluşan kapasitans şarjı, R_{ct} elektrot çözelti ara yüzeyindeki elektron transfer direnci ve W elektrot yüzeyine doğru gerçekleşen kütle aktarımına bağlı olarak Warburg empedansını temsil etmektedir. (B) Ardı ardına yapılan 4 EIS ölçümünden sonra (a) PGE, (b) Kitosan PGE (c) Kitosan/CNT PGE ve 50 $\mu\text{g/mL}$ dsDNA immobilize edilmiş Kitosan/CNT PGE yüzeyinde 40 $\mu\text{g/mL}$ MC ile (d) etkileşim öncesi (e) etkileşim sonrasında elde edilen ortalama R_{ct} değerlerinin gösterildiği histogram ($n=4$).

4.2.2.3 PGE, Kitosan ile modifiye edilmiş PGE ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinin elektrokimyasal analizine ilişkin bulgular

Yöntem 3.4.2.1’de anlatıldığı gibi yapıldı. Yüzeylerine DNA immobilize edilmiş modifiye edilmemiş PGE, Kitosan ve Kitosan/CNT ile modifiye PGE ayrı ayrı edilelerek DPV tekniği ile ölçüldükten sonra elde edilen +1,0 V civarında gözlenen guanine ait yükseltgenme sinyali ile +0,8 V civarında gözlenen MC ye ait yükseltgenme sinyali ölçüldüğünde elde edilen histomogramlar Şekil 4.9’da gösterildi.

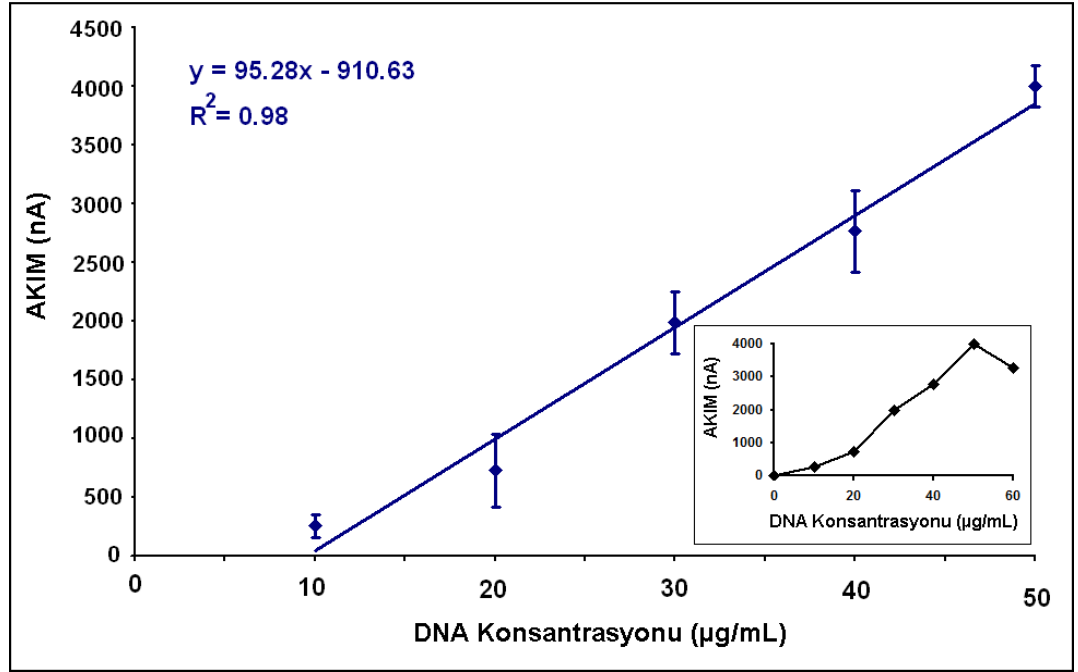


Şekil 4.9 Şekildeki histogramlarda (a) modifiye edilmemiş PGE, (b) Kitosan modifiye PGE ve (c) Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerine; (A) 7.5 dakika süre ile 40 µg/mL konsantrasyonda MC immobilize edilmiş ve (B) 1 saat süre ile 50 µg/mL konsantrasyonda dsDNA immobilize edilmiş elektrotlara ait (A) MC ve (B) Guaninin yükseltgenme sinyallerin ortalama değerleri (n=3)

4.2.3 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde MC DNA etkileşiminin DPV tekniği ile incelenmesi

4.2.3.1 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine DNA konsantrasyon yanıtı olan etkisinin incelenmesine ait bulgular

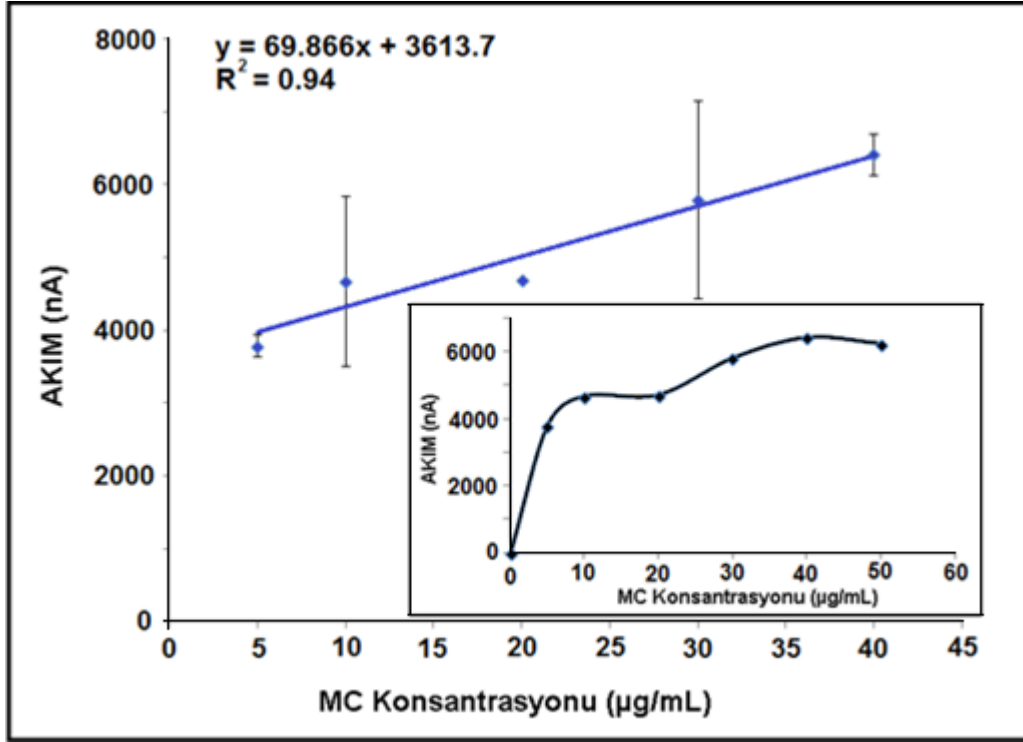
Yöntem 3.4.2.2’te anlatıldığı gibi yapıldı. Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine 0-60 µg/mL aralığındaki değişen konsantrasyonlarında hazırlanan dsDNA tutturuldu. Değişen DNA konsantrasyonunun yanıtı etkisi incelendi ve elde edilen verilere ait grafik Şekil 4.10 da gösterildi.



Şekil 4.10 10 ile 50 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlardaki dsDNA immobilize edilmiş Kitosan/CNT modifiye PGE'lerde yapılan DPV ölçümleri sonucunda elde edilen guanine ait yükseltgenme sinyallerinin artan konsantrasyona bağlı olarak değişen büyüklüklerini gösterildiği kalibrasyon doğrusu. İç figürde ise aynı koşullarda 0 ile 60 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlardaki dsDNA immobilize edilmiş elektrotlara ait konsantrasyon-akım eğrisi gösterilmektedir

4.2.3.2 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde MC konsantrasyon yanıtı olan etkisinin incelenmesine ait bulgular

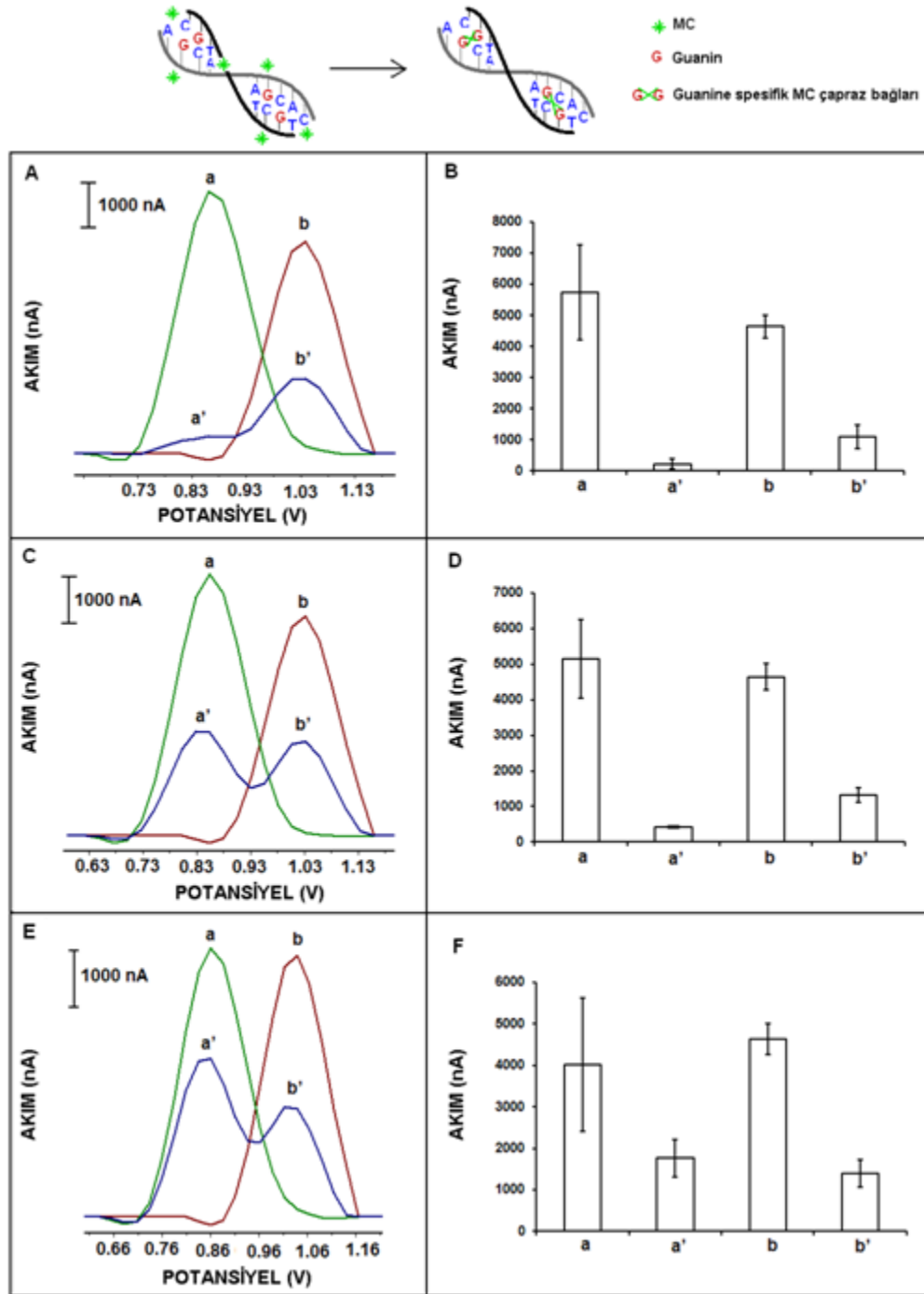
Yöntem 3.4.2.3'te anlatıldığı gibi yapıldı. Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine 0-50 µg/mL aralığındaki değişen konsantrasyonlarında hazırlanan MC tutturuldu. Değişen MC konsantrasyonunun yanıtı etkisinin incelendi ve elde edilen verilere ait grafik Şekil 4.11'da gösterildi.



Şekil 4.11 5 ile 40 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda MC immobilize edilmiş Kitosan/CNT modifiye PGE’lerde yapılan DPV ölçümleri sonucunda elde edilen MC yükseltgenme sinyallerin gösteren kalibrasyon doğrusu. İç figürde ise aynı koşullarda 0 ile 50 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlardaki MC immobilize edilmiş elektrotlara ait sonuçlar gösterilmektedir

4.2.3.3 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde MC-DNA etkileşiminin ve etkileşim süresinin yanıtı etkisinin incelenmesine ait bulgular

Yöntem 3.4.2.4’te anlatıldığı gibi yapıldı. Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde 40 µg/mL MC’nin ile 50 µg/mL dsDNA 7,5, 15 ve 30 dakika olmak üzere üç farklı sürede etkileştirildi. Etkileşim süresi öncesi ve sonrasında MC ve guanin sinyalleri ölçüldü. Her bir etkileşim süresi için temsili birer voltamogram ve ard arda yapılan 3 ölçüme ait ortalama değeri gösteren histogramlar Şekil 4.12’da gösterildi.



Şekil 4.12 Şekil içerisinde bulunan şemada da anlatıldığı gibi MC ile dsDNA etkileşimi MC'nin DNA üzerinde bulunan karşılıklı guanin bazlarını çapraz olarak alkillemesine dayanmaktadır. Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde 40 µg/mL MC'nin ile 50 µg/mL dsDNA ile etkileşmesi öncesi ve sonrasında elde edilen (A), (C), (E) DPV sonuçları ve (B), (D), (F) ard arda yapılan üç DPV ölçümünde elde edilen ortalama sinyal yüksekliklerine ait histogramlar gösterilmektedir. (A) ve (B) 7.5 dakika, (C) ve (D) 15 dakika, (E) ve (F) 30 dakika etkileşim süresine ait sonuçları göstermektedir. (a) etkileşim öncesi (b) etkileşim sonrasında MC'ye ait yükseltgenme sinyali ve (c) etkileşim öncesi (d) etkileşim sonrasında guanine ait yükseltgenme sinyalini temsil etmektedir.

5. TARTIŞMA

5.1 MC-DNA Etkileşiminin PVF ve CNT/PVF ModifiyePGE Yüzeylerinde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Yönelik Tartışma

5.1.1 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerin elektrokimyasal davranışının İncelenmesine yönelik tartışma

Modifiye edilmemiş PGE, PVF modifiye PGE ve CNT/PVF modifiye elektrotlar birbirleri ile yüzey morfolojileri ve elektrokimyasal özellikleri açısından kıyaslanmış ve elde edilen sonuçları ilgili bölümlerde açıklanmıştır.

Yapılan çalışmalar CNT/PVF modifiye elektrodun modifiye edilmemiş elektrot ve yalnızca PVF modifiye elektroda kıyasla MC-DNA etkileşiminin elektrokimyasal tayininde kullanmaya yönelik olarak daha elverişli olduğu görülmüştür.

5.1.1.1 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE'lerin elektrokimyasal davranışının dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile incelenmesiile İlgili Tartışma

Yalın elektrot (Şekil 4.1 a), PVF modifiye elektrot (Şekil 4.1 b) ve CNT/PVF modifiye elektrota (Şekil 4.1 c) ait PBS içerisinde yapılan CV deney sonuçları Şekil 4.1'de gösterildi. Şekil 4.1 b'de de görüldüğü gibi polimerde bulunan ferrosen/ferrosenyum redoks çiftine ait yükseltgenme sinyali +0,42 V'da ve indirgenme sinyali +0,22 V'da gözlemlendi. Pozitif yüklerce zengin olan polimer yapısı içine karbon nanotüplerin eklenmesi ile yükseltgenme ve indirgenme sinyallerinde artış görüldü. Bu artışı yanı sıra polimerin yükseltgenme sinyalinde karbon nanotüpün katalitik etkisine bağlı olarak bir kayma (+0,42 V'tan +0,38 V'a bir kayma) görüldü (Şekil 4.1 c).

Şekil 4.1'de görüleceği gibi polimerin kendi yapısından kaynaklanan ve +0,42 V'ta çıkan sinyali oldukça yüksektir. Bu sinyalin +0,8 V civarında görülen MC ye ait yükseltgenme sinyalinin ölçülmesine engel olacak büyüklükte olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki kısmında ilaç-DNA etkileşiminin yalnızca guanine ait yükseltgenme sinyali üzerinden gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

Bu ölçümlerin yanı sıra modifiye edilmemiş yalın elektroda ait dönüşümlü voltametri sonuçları da Şekil 4.1 a’da gösterilmektedir. Açıkça görülmektedir ki modifiye edilmemiş elektrotta herhangi bir elektroaktiflik görülmemiştir. Wang ve arkadaşları 1996 yılında yaptıkları çalışmada görüldüğü gibi (Wang et al., 1996 c) aromatik aminli bileşiklerin karbon pastası elektrotlarda yükseltgenmelerinin görüntülenmesine benzer olarak MC ‘ye ait yükseltgenme sinyali de karbon pasta elektrot veya tek kullanımlık kalem elektrot gibi grafit elektrotlarda görüntülenebilmektedir (Karadeniz et al., 2007; Ozkan et al., 2004; Canavar et al., 2011; Marin et al., 1998; Eksin et al., 2013; Erdem et al., 2012 (c); Erdem et al., 2012 (d))

5.1.1.2 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE’lerin elektrokimyasal davranışının elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği ile incelenmesi ile ilgili tartışma

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği ile PVF modifiye elektrot ile CNT/PVF modifiye elektrodun farklılıklarının tanımlanması için kullanıldı. Şekil 4.2 a-c’de sırası ile modifiye edilmemiş, PVF modifiye ve CNT/PVF modifiye elektroda ait empedans spektrumları gösterildi. Elde edilen empedans spektrumlarında da görüldüğü gibi CNT’nin polimerik yapının içine katılması ile birlikte, hızlanan elektron transferine bağlı olarak, karbon nanotüpler sayesinde artan elektriksel iletkenlik görüldü. CNT’lerin elektron aktarımına karşı oluşan direnci azaltarak, elektrot ile çözelti ara yüzeyinde gerçekleşen elektron aktarımını teşvik etmektedir. Bu bakımdan incelendiğinde sonuçlarımızın daha önce literatürde karbon nanotüp-polimer kompozit karışımı yapılar ile yürütülen çalışmaları ile paralel olduğu saptandı (Lin et al., 2004) .

5.1.1.3 PVF ve CNT/PVF modifiye PGE’lerin elektrokimyasal davranışının diferansiyel puls voltametrisi (DPV) tekniği ile incelenmesi ile ilgili tartışma

CNT/PVF ve PVF modifiye PGElerin karakterizasyonunun ardından diferansiyel puls voltametrisi tekniği ile DNA’da bulunan elektro aktif bazların yükseltgenme sinyallerinin görüntülenmesine çalışıldı. Şekil 4.3’te de görüldüğü gibi gerek CNT/PVF gerekse PVF modifiye PGEler ile yapılan çalışmalarda +1,07 V civarında guanine ait yükseltgenme sinyalleri saptandı. Yalnızca PVF modifiye PGE’ler de 1452,50 nA civarında olan sinyal büyüklüğü elektrodun CNT/PVF ile modifiye edilmesinin ardından 3178,30 nA büyüklüğüne ulaştı.

Böylelikle elektrotların modifiye edilmesinde kullanılan karbon nanotüp sayesinde guanine ait yükseltgenme sinyali ortalama 2,2 kat arttığı tespit edildi. İlgili sonuçlar literatürde bulunan diğer çalışmaların sonuçlarına paralel olup (Kim et al., 2007) karbon nanotüpün sahip olduğu yüksek elektriksel iletkenlikten kaynaklandığı bilinmektedir.

5.1.2 MC ile DNA etkileşimin CNT/PVF modifiyePGE yüzeyinde elektrokimyasal olarak incelenmesine yönelik tartışma

dsDNA konsantrasyonunun etkisini incelemek amacı ile 100 ile 400 µg/mL aralığında farklı konsantrasyonlardaki DNA CNT/PVF ile modifiye edilmiş PGE üzerine immobilize edilmiş ve +1,07 V civarında çıkan guanin yükseltgenme sinyalleri ölçülmüştür. Arda arda yapılan üç ölçümün ardından, 100 ve 200 µg/mL konsantrasyonundaki dsDNA'ya ait guanin yükseltgenme sinyali büyüklüklerinin hemen hemen yakın olduğu, 400 µg/mL DNA konsantrasyonunda ise sinyalde 200 µg/mL dsDNA konsantrasyonuna kıyasla, % 48,71 oranında artış saptandı (gösterilmedi). En tekrarlanabilir guanin sinyalleri, 200 µg/mL DNA konsantrasyonunda gözlemlendiği için optimum DNA konsantrasyonu olarak seçildi.

5.1.2.1 MC DNA etkileşimin DPV tekniği ile incelenmesi ve MC konsantrasyonunun yanıt etkisinin araştırılması ile ilgili tartışma

MC konsantrasyonunun +1,075 V civarında çıkan guanin sinyali üzerine etkisi, 2,5 ile 40 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda MC ile 200 µg/mL dsDNA'nın CNT/PVF modifiye PGE yüzeyinde etkileşmesinin ardından yapılan DPV ölçümleri ile araştırılmıştır (Şekil 4.4).

Şekil 4.4 A'da etkileşim öncesi ve sonrasında elde edilen guanin sinyallerini gösteren temsili voltamogram ile Şekil 4.4 B'de artan MC konsantrasyonlarına bağlı olarak değişen guanin sinyallerinin ortalama değerleri ile çizilen histogram görülmektedir. Guanin sinyalindeki en fazla azalma 20 µg/mL MC konsantrasyonunda gözlemlenmiş olup, daha yüksek konsantrasyonlarda guanin sinyalindeki artış büyük oranda azalmıştır. MC'nin çift sarmal DNA üzerinde bulunan guanin-sitozin çifti bağına etki ederek DNA replikasyonunu bloke ettiği bilinmektedir. Bu etkiye bağlı olarak ise MC ve DNA etkileşimi sonucunda guanine ait yükseltgenme sinyallerinin büyüklüklerinde azalma görülmektedir. Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar literatürde mevcut diğer çalışmaların sonuçlarına

paraleldir (Rauf et al., 2005; Wang et al., 1996 c; Karadeniz et al., 2007; Ozkan et al., 2004; Canavar et al., 2001; Marin et al., 1998; Eksin et al., 2013; Erdem et al., 2012 (c); Erdem et al., 2012 (d))

5.1.2.2 MC'nin etkileşim süresinin yanıt etkisinin incelemesi ile ilgili tartışma

Şekil 4.5'te de görüleceği gibi guanin sinyali, ilacın DNA ile etkileşmesinin ardından; yalnızca DNA'nın ölçüldüğü duruma kıyasla, azalmaktadır. Çalışmamızın bu kısmında MC – dsDNA etkileşiminde etkileşim süresinin yanıt etkisi incelenmiş bu amaçla 7.5 ile 30 dakika arasında değişen sürelerde etkileşim sağlanmış ardından elektrotlar elektrokimyasal diferansiyel puls voltametrisi ile ölçülmüştür. Etkileşim süresi 7.5 dakikadan 30 dakikaya doğru arttıkça sensörden elde edilen yanıtın, +1,075 V'ta elde edilen guanine ait yükseltgenme sinyalinin arttığı, yalnızca DNA'nın ölçüldüğü duruma kıyasla okunan guanin sinyali ile arasındaki farkın ise giderek azaldığı görülmektedir. Şekil 4.5'te görülen sonuçlara dayanarak, en iyi etkileşimin sağlandığı, guanin sinyalinde en büyük azalmayı sağlayan (yaklaşık % 76 azalma) süre olan 7.5 dakika optimum etkileşim süresi olarak seçilmiştir.

CNT/PVF modifiye PGE yüzeyinde arda arda yapılan üç voltametrik ölçümünde 20 µg/mL MC ile 200 µg/mL dsDNA'nın etkileşmesinin ardından elde edilen ortalama guanin yükseltgenme sinyalleri 2190±689.04 nA civarı gibi iyi bir tekrarlanabilirlikle ölçülmüştür. MC için tayin sınırı 625 ng/mL (S/N=3) olarak hesaplanmıştır (Miller and Miller, 2000). Elde edilen bu sonuçlar literatürde daha önce farklı elektrot tipleri ile yapılan çalışmalar ile kıyaslanabilir niteliktedir (Kuralay et al., 2010; Ozkan et al., 2004).Eksin ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptığı çalışmada kitosan iyonik sıvı modifiye PGE yüzeyinde MC için elde edilen tayin sınırı 4,47 µg/mL olarak tespit edilmiştir (Eksin et al., 2013). Buna göre çalışmamızda hazırlanan yeni biyosensörler ile MC nin elektrot yüzeyine daha fazla bağlandığı ve sonuçların duyarlılığı açısından MC tayininde çok daha düşük konsantrasyonlarda analiz yapabilmek imkanı tanıdığı görülmektedir.

Bu çalışmada ayrıca CNT/PVF modifiye PGE yüzeyinde aynı şartlar altında en düşük konsantrasyon olan 5 µg/mL MC ile gerçekleştirilen MC-DNA etkileşiminde % 11,54 gibi oldukça iyi bir bağıl standart sapma değerine (% RSD) ulaşılmıştır (n=3). Bunun yanı sıra elektrotun kararlılığı da araştırılmıştır. Bu

amaçla 1 hafta süre ile +4°C’de saklanan elektrot ile çalışıldığında ilk yanıtına kıyasla, sadece %12 gibi bir kayıp gözlemlenmiştir.

5.2 MC-DNA Etkileşiminin Kitosan ve Kitosan/CNT ModifiyePGE Yüzeylerinde Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Yönelik İlgili Tartışma

Çalışmamızda ilk olarak PGE yüzeyinin modifikasyonu için kullanılacak kitosan konsantrasyonuna karar verilmiştir. Literatürde kullanılan karbon nanotüp konsantrasyonu (3 µg/mL) sabit tutulmuş ve 1000 ile 10000 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda kitosan çözeltisi kullanılmıştır. Bu farklı konsantrasyonlardaki kitosan çözeltisi ile modifiye edilen elektrot yüzeylerine 50 µg/mL dsDNA immobilize edilmiştir. DNA immobilizasyonunun sonrasında her bir kitosan konsantrasyonu için 3 defa tekrar edilen DPV ölçüm yapılmış olup, elde edilen sonuçlara göre, bundan sonraki kısmında 5000 µg/mL konsantrasyondaki kitosan çözeltisi ile çalışılmasına karar verilmiştir (gösterilmedi).

5.2.1 Kitosan/CNT modifiyePGE’lerin elektrokimyasal davranışının incelenmesine yönelik tartışma

5.2.1.1 PGE, Kitosan ile modifiye edilmiş PGE ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile karakterizasyonuna ile ilgili tartışma

Çalışmamızda (Şekil 4.6 a-c) modifiye edilmemiş PGE, (Şekil 4.6 d-f) Kitosan modifiye PGE, (Şekil 4.6 g-i) CNT modifiye PGE ve (Şekil 4.6 k-l) Kitosan/CNT modifiye PGE elektrotların yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskobu (SEM) altında incelenmiş 10 µm, 2 µm ve 500 nm olmak üzere üç farklı büyüklüklerde görüntüler alınmıştır. Şekilde 4.6’da görüldüğü gibi kitosanın CNT ile karıştırılarak kullanılmasının ardından yüzey morfolojisinde homojen bir değişim görülmüştür.

5.2.1.2 Modifiye edilmemiş PGE, Kitosan, CNT, ve Kitosan/CNT modifiye PGE dönüşümlü voltametri (CV) ile karakterizasyonu ile ilgili tartışma

Çalışmamızda modifiye edilmemiş PGE (Şekil 4.7 a), Kitosan modifiye PGE (Şekil 4.7 b), CNT modifiye PGE (Şekil 4.7 c) ve Kitosan/CNT modifiye PGE

(Şekil 4.7 d) 01. M KCl içeren 2 mM $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ (1:1) içerisinde, Ag/AgCl elektroda karşı, 100 mV/s tarama hızında, +0,4 'den +1,2 V'a dönüşümlü voltametri tekniği ile ölçülmüştür.

Dönüşümlü voltametri sonuçlarının bulunduğu Şekil 4.7'de de görülebileceği gibi elektrot yüzeyinin kitosan, CNT veya Kitosan/CNT ile modifikasyonunun ardından elektron transfer miktarı artmış ve en büyük artış Kitosan/CNT modifikasyonu sonrasında gözlemlenmiştir.

Modifiye edilmemiş PGE ye ait ortalama anodik pik değeri (I_a) $41,23 \pm 6,71 \mu A$ (RSD % 16,27, $n=3$) olarak bulunmuştur. PGE yüzeyinin kitosan ile modifikasyonundan sonra bu değer artarak, $118,10 \pm 5,07 \mu A$ 'e yükselmiştir (RSD % 4,29, $n=3$). Benzer şekilde elektrot yüzeyinin CNT ile modifikasyonunda sonra ortalama I_a değeri $111,26 \pm 5,02 \mu A$ (RSD % 4,51, $n=3$)'a yükselmiştir. Sonuçta en yüksek artış ise 2,20 kat ile Kitosan/CNT modifikasyonu ile olmuştur. Kitosan/CNT modifikasyonunun ardından I_a değeri $131,63 \pm 6,63 \mu A$ (RSD % 5,04, $n=3$) a yükselmiştir. Bu sonuçlara istinaden Kitosan/CNT modifikasyonunun literatürdeki çalışmalara benzer olarak elektron transferini hızlandırdığı bir kez daha doğrulanmıştır (Shieh et al. 2013).

5.2.1.3 PGE, Kitosan ile modifiye edilmiş PGE, Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeylerinin karakterizasyonunun ve MC-DNA etkileşiminin elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği ile incelenmesine ilgili tartışma

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği grafit elektrot yüzeyinde yapılan Kitosan ve Kitosan/CNT modifikasyonlarının nasıl bir değişim meydana getirdiğini incelemek amacı ile kullanılmıştır. İlk olarak modifiye edilmemiş elektroda ait R_{ct} değeri yaklaşık $50,55 \Omega$ olarak bulunmuştur (Şekil 4.8 B a). Elektrotun kitosan ile modifikasyonun ardından R_{ct} değeri $5,07 \Omega$ (Şekil 4.8 B b) ve Kitosan/CNT ile modifikasyonun ardından ise $0,00 \Omega$ (Şekil 4.8 B c) olarak okunmuştur. Şarj transfer direncinde oluşan bu değişimin öncelikle Kitosan veya Kitosan/CNT karışımının elektrot yüzeyine başarı ile immobilize edildiğinin bir kanıtıdır.

EIS tekniği elektrot yüzeyinde yapılan modifikasyonların tayininin yanı sıra elektrot yüzeyinde gerçekleştirilen ilaç DNA etkileşiminin de incelenmesinde kullanılabilmektedir (Erdem and Congur, 2013). Bu amaçla Kitosan/CNT

modifiye elektrot yüzeyine optimum konsantraasyonlarda DNA'nın immobilize edilmesinin ardından yapılan EIS ölçümünde elde edilen R_{ct} değeri kaydedilmiştir. Bu değerlerde oldukça büyük artışlar olduğu görülmüştür. Bunun nedeni DNA da bulunan negatif yüklü fosfat bağları, redoks probu içerisinde bulunan $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ gurubunun elektrot yüzeyine yaklaşmasını önlemesidir bu sebeple elektrot yüzeyine DNA immobilize edildikten sonra R_{ct} değerinde büyük artış görülmektedir (Şekil 4.8 B d). MC'nin çift sarmal olan DNA'ya bağlanarak etkileşmesi DNA'nın sahip olduğu toplam negatif yük miktarının azalmasına yol açar böylelikle elektron transfer direnci sadece DNA'nın var olduğu duruma kıyasla daha az olur. Bu azalan transfer direnci, R_{ct} değeri ile gösterilmektedir ve Şekil 4.8'de görüleceği gibi etkileşim sonra azalan negatif yük miktarına bağlı olarak R_{ct} değeri de azalır.

5.2.1.4 PGE, Kitosan ile modifiye edilmiş PGE ve Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinin elektrokimyasal analizine ilişkin bulgular;

Elektrokimyasal karakterizasyon çalışmalarının ardından modifiye edilmemiş PGE (Şekil 4.9 a), kitosan (Şekil 4.9 b) ve Kitosan/CNT modifiye (Şekil 4.9 c) elektrotlarının elektrokimyasal performansları MC ve guanin sinyali üzerine yaptıkları etki üzerinden incelenerek kıyaslanmıştır.

Etkileşim prosesinden bağımsız olarak her bir elektrotta sabit konsantrasyonda ayrı ayrı MC (Şekil 4.9 A) ve DNA (Şekil 4.9 B) immobilize edilmiş ve +0,2 V'tan +1,2 V'a DPV tekniği ile yükseltgenme sinyalleri ölçülmüştür.

Şekil 4.9'de de görüldüğü gibi elektrot yüzeyinin sadece kitosan ile modifiye edilmesi sonucunda sinyalde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Bu sonucun daha önce literatürde de belirtilen bulgulara paralel olarak kitosanın düşük iletkenliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Ghica et al., 2009). Ghica ve çalışma arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları çalışmada düşük iletkenliği sebebi ile kitosanın elektron akışını yavaşlattığını göstermiştir. Şekil 4.9'da da görüleceği gibi kitosanın bu etkisine ek olarak, CNT ile karışımını kullanarak modifiye edilen elektrotta yapılan DNA ve MC ölçümlerinde ise büyük farklılıklar gözlemlenmiştir. Elektrot yüzeyi Kitosan/CNT ile modifiye edildikten sonra guanine ait yükseltgenme sinyalinde yalın elektroda göre % 33,88 ve MC de % 33,52 artış gözlemlenmiştir. Böylelikle Kitosan/CNT modifiye elektrot

yüzeylerinin aynı anda hem MC hemde DNA'nın görüntülenmesinde kullanılabileceği görülmüştür.

5.2.2 Kitosan/CNT modifiyePGE yüzeyinde MC DNA etkileşiminin DPV tekniği ile incelenmesine yönelik tartışma

5.2.2.1 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine DNA konsantrasyon yanıtı olan etkisinin incelenmesi ile ilgili tartışma

Çalışmamızda DNA konsantrasyonunun guanin sinyali üzerindeki etkisini incelemek amacı ile 10 ile 60 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda DNA Kitosan/CNT modifiye elektrot yüzeyine immobilize edilerek elektrokimyasal yükseltgenme sinyalleri ölçülmüştür. Şekil 4.10'da de görüldüğü üzere 50 µg/mL'ye dek guanine ait yükseltgenme sinyalinde bir artış söz konusudur. Şekil 4.9 içerisinde gösterilen kalibrasyon eğrisinde de görüldüğü gibi bu değerden sonra guanin yükseltgenme sinyalin azalma görülmüştür. Bu nedenle çalışmamızın bu kısmı için Kitosan/CNT modifiye PGE'lerde 50 µg/mL optimum DNA konsantrasyonu olarak belirlenmiştir ve bu konsantrasyonda ardı ardına yapılan 3 ölçüm sonuncunda % 4,38'lik bir bağıl standart sapmaya erişilmiştir. Tayin limiti literatürde tarif edildiği şekilde, $y = y_B + 3S_B$ regresyon eşitliğinden (y_B : yalnızca çözeltiden elde edilen sinyal, y_{SB} : ölçümlerin ortalama standart sapması) yararlanılarak hesaplanmış ve guanin için 11,98 ng/mL bulunmuştur (Miller and Miller, 2000). Erdem ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları çalışmada grafen oksit modifiye sensör yüzeyi için tayin limiti 9,06 µg/mL bulunurken, sepiolit karbon nanotüp karışımı yüzeyde bu değer 0,81 µg/mL olarak bulunmuştur (Erdem et al., 2012(c), (d)).

5.2.2.2 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyine MC konsantrasyon yanıtı olan etkisinin incelenmesi ile ilgili tartışma

Çalışmamızda ayrıca MC konsantrasyonunun MC sinyali üzerindeki etkisini incelemek amacı ile 5 ile 50 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda MC, Kitosan/CNT modifiye elektrot yüzeyine immobilize edilerek elektrokimyasal yükseltgenme sinyalleri ölçülmüştür. Şekil 4.11'da da görüldüğü üzere 40 µg/mL'ye dek yükseltgenme sinyalinde bir artış söz konusudur bu nedenle çalışmamızın bu kısmı için Kitosan/CNT modifiye PGE'lerde 40 µg/mL, optimum MC konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Literatürde tarif edildiği şekilde, $y = y_B + 3S_B$ regresyon eşitliğinden (y_B : yalnızca çözeltiden elde edilen

sinyal, y_{SB} : ölçümlerin ortalama standart sapması) yararlanılarak hesaplanmış ve MC için 11,01 µg/mL bulunmuştur (Miller and Miller, 2000).

5.2.2.3 Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde MC-DNA etkileşiminin ve etkileşim süresinin yanıtı etkisi ile ilgili tartışma

Çalışmamızda ayrıca tek kullanımlık Kitosan/CNT PGE'ler antikanser ilaç-DNA etkileşiminin elektrokimyasal tekniklerle görüntülenmesine çalışılmış ve MC hedef ilaç olarak seçilmiştir. Mitomisin C, Şekil 4.12'de buluna şemada da gösterildiği gibi DNA üzerinde bulunan guanin nükleotidlerine spesifik şekilde bağlanmasını sağlayan alkilleyici bir ajandır. Bu karakteristik özelliği sebebi ile birçok çalışmada MC-DNA etkileşimi MC'nin guanne spesifik etkileşimi sonucu, guaninin elektrokimyasal yükseltgenme sinyalindeki değişim üzerinden incelenebilmektedir (Tomasz, 1995; Erdem et al., 2012 (c)).

Şekil 4.12'de gösterilen voltamogram ve histomagromlar Kitosan/CNT PGE yüzeyinde 40 µg/mL MC nin 50 µg/ml DNA ile etkileşimi öncesi ve sonrasında ölçülen MC ve guanin sinyallerini göstermektedir. Etkileşim süresinin sinyal üzerindeki etkisi araştırılmış bu amaçla; 7,5 dakika (Şekil 4.12 A, B), 15 dakika (Şekil 4.12 C, D) ve 30 dakikalık (Şekil 4.12 E, F) etkileşim süreleri denenmiştir. Temsili olarak gösterilen voltamogramlarda da görüleceği gibi +0,83 V'ta MC ve + 1,04 V'ta guanin sinyalleri ölçülmüştür. Farklı etkileşim sürelerinde yapılan deneylerde tümünde ilaç DNA etkileşiminin ardından guanin sinyalinde bir azalma gözlemlenmiştir. Guanin sinyalindeki en yüksek azalış ise MC için % 96,08 ve guanin için % 76,10 ile 7,5 dakika etkileşim süresinde elde edilmiştir. Bu sonuçlara paralel olarak diğer etkileşim sürelerinde elde edilen azalma oranları ise şöyledir; 15 dakika etkileşim süresinde MC için %91,80 ve guanin için %56,17 ile 30 dakika etkileşim süresinde MC için % 71,64 ve guanin için % 70,00'tir.

Çalışmamızda guanine ait elektrokimyasal yükseltgenme sinyali ilaç DNA etkileşiminin incelenmesinde dönüştürücü sinyal olarak kullanılmıştır (Şekil 4.12). İlaç-DNA etkileşimi çalışmalarında DNA'da oluşan modifikasyon guanin sinyalindeki değişim, değişim yüzdesi cinsinden (S%) de ifade edilebilmektedir (Bagni et al., 2006). Bu değer, guanin sinyalinin etkileşim öncesi (S_b) ve etkileşim sonrası (S_a) elde edilen ölçümlerinin oranlaması ile hesaplanmaktadır.

$$S\% = (S_a / S_b) \times 100$$

Bu hesaplama biçiminde, ilaçla hiç etkileşime girmeyen DNA % 100 değişim yüzdesi değerine sahiptir. Yapılan çalışmalar ile DNA ile etkileşime giren ilaçlar S değeri üzerinden toksisitelerine göre sınıflandırılmıştır. % 85 ve üzeri S değerine sahip ilaçlar toksik olmayan, % 50 ile 85 arasındakiler orta derecede toksik ve % 50'nin altındaki maddeler toksik olarak belirlenmiştir (Bagni et al., 2006). Bu eşitliğe göre 7,5, 15 ve 30 dakika etkileşim süreleri için hesaplanan S değerleri sırası ile şu şekildedir; 23,90, 28,40 ve 30,00. Elde edilen bu S değerlerine göre MC söz konusu etkileşim sürelerinin tümünde toksik kimyasal sınıfındadır.

Millan ve Mikkelsen'nin yapmış olduğu bir çalışmaya göre (Millan and Mikkelsen, 1993), ilaç DNA etkileşiminin yorumlanmasında farklı bir parametre de ayrılma katsayısıdır. Bu sistemde bir öncekinden farklı olarak ilaç sinyali üzerinden değerlendirme yapılmaktadır. Ayrılma katsayısı aşağıdaki eşitlik üzerinden hesaplanmaktadır. Burada i_{free} etkileşim öncesi tek başına ölçülen ilaç sinyalini, i_{bound} ise etkileşim sonrası ölçülen ilaç sinyalini temsil etmektedir.

$$MC_{bound}/MC_{free} = |(i_{bound} - i_{free})/i_{free}|$$

Kitosan/CNT modifiye elektrot yüzeyinde Şekil 4.12'deki verilere dayanarak hesaplanan ayrılma katsayıları ise sırası ile şöyledir; 7,5 dakika için 0,96, 15 dakika için 0,92 ve 30 dakika için 0,56.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Modifiye edilmemiş ve edilmiş elektrotların karakterizasyonu, ilaç, DNA ve ilaç-DNA etkileşim analizleri CV, DPV ve EIS teknikleri ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızın ilk kısmında, ilk defa ilaç-DNA etkileşiminin elektrokimyasal biyosensörler ile incelenmesinde kullanılmak üzere nanoteknoloji ve polimer teknolojisinin avantajlarının bir arada kullanıldığı CNT/PVF modifiye tek kullanımlık grafit elektrotlar kullanılmıştır. CNT/PVF kompozit film yapısı içerisinde homojen bir biçimde dağılmış SWCNT içeren PVF çözeltisinin elektrokimyasal polimerizasyonu ile elde edilmiştir. Guanine ait yükseltgenme sinyaliindeki değişim MC varlığında ve yokluğunda hassas bir biçimde voltametrik teknikler kullanılarak ölçülmüştür. Polimerik yapıya SWCNT'nin eklenmesi ile birlikte elde edilen guanine yükseltgenme sinyallerinde bir artış gözlemlenmiştir. Litaratürde mevcut polimer-nanopartikül karışımı yapılarla gerçekleştirilen çalışmalara kıyasla çalışmamızda kullandığımız elektrotların hazırlanması daha kolay, hızlı ve maliyet açısından daha ucuzdur. Tayin sınırı ise 625 ng/mL (S/N=3) bulunmuştur.

Çalışmamızın ikinci kısmında kullanılan kitosan karbon nanotüp karışımlarının (Kitosan/CNT) modifiye elektrokimyasal tek kullanımlık grafit sensörler bu çalışmada ilk defa antikanser ilaç DNA etkileşimin incelenmesinde kullanılmıştır. Tayin sınırı Kitosan/CNT modifiye PGE yüzeyinde çift sarmal DNA için 11,98 µg/mL (S/N=3) ve hedef antikanser ilaç olan MC için 17,32 µg/mL olarak bulunmuştur.

Tek kullanımlık kalem grafit elektrotlar, pratik uygulanabilirliği, hassasiyeti, düşük maliyeti ve yüksek tekrarlanabilirlik avantajları sayesinde tek kullanımlık kalem grafit elektrotlara dayalı sensörlerin getirmiş olduğu tüm avantajları barındırmakta ve karbon pasta elektrot, camı karbon elektrot ve altın elektrot gibi alternatiflerinden daha ileri bir teknolojiyi işaret etmektedir.

Litaratürde daha önce kitosan veya Kitosan/CNT karışımlarının, grafit – epoksi, indiyum - kalay oksit gibi farklı elektrotlar kullanılarak yapılmış glikoz biyosensörleri bulunmaktadır (Ghica et al., 2009; Lin et al., 2009). Çalışmalarımızda geliştirdiğimiz biyosensörler, önceki çalışmalara kıyasla, gerek tayin protokollerinin kısa zamanda sonuçlanması gerekse daha düşük maliyetli ekipmanlarla yürütülebilmesi nedeni ile alternatifi olabilme potansiyeline sahiptir.

Çalışmamızda geliştirdiğimiz yeni biyosensör teknolojileri özellikle DNA hedefli ilaçların, toksin ve proteinlerin DNA ile etkileşiminin anlaşılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca sahip olduğu diğer avantajlar sebebi ile bazı önemli genetik ve bulaşıcı hastalıkların ileride hasta başında kısa sürede teşhisini sağlayabilecek yeni alternatif yöntemlere ön ayak olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abraham, L.M., Selva, D., Casson, R. and Leibovitch, I.**, 2006, Mitomycin Clinical Applications in Ophthalmic Practice, *Drugs*, 66(3):321-340pp.
- Agui, L., Yanez-Sedeno, P.J. and Pingarron, M.**, 2008, Role of carbon nanotubes in electroanalytical chemistry: A review, *Analytica Chimica Acta* 622, 11-47 pp.
- Ahmadi, F. and Jafari B.**, 2011, Voltammetry and Spectroscopy Study of In Vitro Interaction of Fenitrothion with DNA, *Electroanalysis* 23:675-682 pp.
- Annamalai, S.K., Palani, B. and Pillai, K.C.**, 2012, Highly stable and redox active nano copper species stabilized functionalized-multiwalled carbon nanotube/chitosan modified electrode for efficient hydrogen peroxide detection, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 395:207-216 pp.
- Ariksoysal, D.O., Karadeniz, H., Erdem, A., Sengonul, A., Sayiner, A.A. and Ozsoz, M.**, 2005, Label-free electrochemical hybridization genosensor for the detection of hepatitis B virus genotype on the development of lamivudine resistance, *Anal. Chem.*, 77(15):4908-4917 pp.
- Arora, K., Prabhakar, N., Chand, S. and Malhotra, B.D.**, 2007, Ultrasensitive DNA hybridization biosensor based on polyaniline, *Biosens. Bioelectron.* 23:613-620 pp.
- Authier, L., Grossiord, C., Brossier, P. and Limoges, B.**, 2001, Gold Nanoparticle-Based Quantitative Electrochemical Detection of Amplified Human Cytomegalovirus DNA Using Disposable Microband Electrodes, *Anal. Chem.*, 73:4450-4456 pp.
- Bagni, G., Osella, D., Sturchio, E. and Macsini, M.**, 2006, Deoxyribonucleic acid (DNA) biosensors for environmental risk assessment and drug studies, *Analytica Chimica Acta*, 573: 81-89 pp.
- Barsoukov, E. and MacDonald, J.R.**, 2005, Impedance Spectroscopy Theory Experiment and Applications, Wiley-Interscience, USA.
- Bauer, L.A., Birenbaum, N.S. and Meyer, G.J.**, 2004, Biological applications of high aspect ratio nanoparticles, *J. Mater. Chem.*, 14: 517-526 pp.
- Bej, A.K.**, 1996, Nucleic acid analysis: Principles and Bioapplications, Wiley-Liss (Ed) Inc., 29p.
- Bertino, J. R.**, 1992, Antineoplastic Drugs, Textbook of Pharmacology, W. B. Saunders Company, USA, 957-958p.
- Beşergil, B.**, 2002, Enstrümantal Analiz, C.B.Üniversitesi, Çeviri, Cilt I, II, Manisa.
- Bian, C.L., Zeng, Q.X., Yang, L.J., Xiong, H.Y., Zhang, X.H. and Wang, S.F.**, 2011, Voltammetric studies of the interaction of rutin with DNA and its analytical applications on the MWNTs–COOH/Fe₃O₄ modified electrode, *Sensors and Actuators B*, 156:615-620.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- 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.
- Brett, A.M. Oliveira, Macedo, T.R.A., Raimundo, D., Marques, M.H. and Serrano, S.H.P.**, 1998, Voltammetric behaviour of mitoxantrone at a DNA-biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 13: 861-867 pp.
- Brett, A.M.O., Serrano, S.H.P., Gutz, I., La-Scalea, M.A. and Cruz, M. L.**, 1997, Voltammetric behaviour of nitroimidazoles at a DNA-biosensor, *Electroanalysis*, 9: 1132-1137 pp.
- Buzea, C., Pacheco, I. and Robbie, K.**, 2007, Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity, *Biointerphases* 2(4):MR17-MR71 pp.
- Cai, H., Xu, Y., Zhu, N., He, P. and Fang, Y.**, 2002, An electrochemical DNA hybridization detection assay based on a silver nanoparticle label, *Analyst*, 127: 803-808 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.
- Caliskan A., Erdem, A. and Karadeniz H.**, 2009, Direct DNA hybridization on the single-walled carbon nanotubes modified sensors detected by voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy, *Electroanalysis*, 21(19):2116-2124 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.
- Canavar, E., Kuralay, F. and Erdem, A.**, 2001, Interaction of Mitomycin C with DNA immobilized onto single-walled carbon nanotube/polymer modified pencil graphite electrode, *Electroanalysis*, 23(10):2343-2349 pp.
- Carpini, G., Lucarelli, F., Marrazza, G. and Mascini, M.**, 2004, Oligonucleotide-modified screen-printed gold electrodes for enzymeamplified sensing of nucleic acids, *Biosens. Bioelectron.*, 20(2):167-175 pp.
- Carter, M. T. and Bard, A. J.**, 1987, Voltammetric studies of the interaction of tris (1,10-phenanthroline) cobalt (III) with DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, 109: 7528-7530 pp.
- Carter, M.T., Rodriguez, M. and Bard, A.J.**, 1989, Voltammetric studies of the interaction of metal chelates with DNA. 2. Tris chelated complexes of Cobalt (III) and Iron (II) with 1,10-phenantroline and 2, 2'-Bipyridine, *J. Am. Chem. Soc.*, 111: 8901-8911 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Catalan, M., Alvarez-Lueje, A. and Bollo, S.**, 2010, A novel sensitive electrochemical DNA biosensor for assaying of anticancer drug leuprolide and its adsorptive stripping voltammetric determination, *Bioelectrochemistry*, 79:162-167 pp.
- Chen, C.W.**, 1983, Enhanced intraocular pressure controlling effectiveness of trabeculectomy by local application of mitomycin C . *Trans Asia-Pacific Acad Ophthalmol*, 172-175 pp.
- Chen, J., Du, D., Yan, F., Ju, H.X. and Lian, H.Z.**, 2005, Electrochemical antitumor drug sensitivity test for Leukemia K562 cells at a carbon-nanotube-modified electrode, *Chem. Eur. J.* 11:1467-1472 pp.
- Chen, R.J., Zhang, Y., Wang, D. and Dai, H.**, 2001, noncovalent sidewall functionalization of single-walled carbon nanotubes for protein immobilization, *J. Amer. Chem. Soc.*, 123: 3838-3839 pp.
- Chiti, G., Marazza, G. and Mascini, M.**, 2001, Electrochemical DNA biosensor for environmental monitoring, *Anal. Chim. Acta*, 427:155-164 pp.
- Christopoulos, T. K.**, 1999, Nucleic acid analysis, *Anal. Chem.*, 71:425R–438Rp.
- Congur, G., Sayar F., Erdem, A. and Piskin, E.**, 2013, Voltammetric and impedimetric DNA detection at single-use graphite electrodes modified with gold nanorod, *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces*, 112:61-66 pp.
- Congur, G., Eksin, E., Mese, F. and Erdem, A.**, 2014, Succinamic acid functionalized PAMAM dendrimer modified pencil graphite electrodes for voltammetric and impedimetric DNA analysis, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 201:59-64 pp.
- Coulet, P.R.**, 1991, What is a Biosensor? Marcel Dekker Inc., New York, 1-6p.
- Danshiitsoodol, N., De Pinho, C.A., Matoba, Y., Kumagai, T. and Sugiyama M.**, 2006, The mitomycin C (MMC)-binding protein from MMC-producing microorganisms protects from the lethal effect of bleomycin: crystallographic analysis to elucidate the binding mode of the antibiotic to the protein, *J Mol. Biol.*, 360:398–408 pp.
- Dervan, P.B.**, 1986, DNA structure and Function; Chapter 1- Introduction to The Structure, Properties and Reactions of DNA; R. R. Sinden (Ed), Academic Press, California, 1994, 1-57 p.
- Dervan, P.B.**, 1998, Design of Sequence-specific DNA-binding molecules, *Science*, 232: 464-471 pp (a).
- Dervan, P.B.**, 1998, Sequence Specific Recognition of Double Helical DNA. A Synthetic Approach, *Nucleic Acids and Molecular Biology*, Vol.2: Ed. Eckstein, F. and Lilley, D.M.J., Springer-Verlag, Berlin, 49-64p (b).
- Dogan-Topal B., Uslu, B. and Ozkan, S.O.**, 2009, Voltammetric studies on the HIV-1 inhibitory drug Efavirenz: The interaction between dsDNA and drug using electrochemical DNA biosensor and adsorptive stripping voltammetric determination on disposable pencil graphite electrode, *Biosensors and Bioelectronics* 24:2358-2364 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dogan-Topal, B. and Ozkan, S.A.**, 2011, A novel sensitive electrochemical DNA biosensor for assaying of anticancer drug leuprolide and its adsorptive stripping voltammetric determination, *Talanta* 83:780–788 pp.
- Dökmeci, İ.**,1992, Farmakoloji - İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar, 63.Bölüm: Antikanser İlaçlar, Nobel Tıp Kitabevleri, s. 819-848 pp.
- Eksin, E., Muti, M. and Erdem, A.**, 2013, Chitosan/Ionic liquid composite electrode for electrochemical monitoring of the surface-confined interaction between Mitomycin C and DNA, *Electroanal.*,25:2321-2329 pp.
- Erdem, A., Kerman, K., Meriç, B., Akarca, U.S. and Ozsoz M.**, 1999, DNA electrochemical biosensor for the detection of short DNA sequences related to the hepatitis B virus, *Electroanal.*, 11: 586-588 pp (a).
- Erdem, A., Meriç, B., Kerman, K., Dalbastı, T. and Ozsoz, M.**, 1999, Detection of interaction between metal complex indicator and DNA by using electrochemical biosensor, *Electroanal.*, 11:1372-1376 pp (b).
- Erdem, A., Kerman, K., Meriç, B., Akarca, U.S. and Ozsoz M.**, 2000, Novel hybridization 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. and Ozsoz, M.**, 2001, Interaction of anticancer drug, Epirubicin with DNA, *Anal. Chim. Acta*, 437:107-114 pp (a).
- Erdem, A. and Ozsoz, M.**, 2001, Voltammetry of the anticancer drug mitoxantrone and DNA, *Turk. J. Chem*, 25:469-475 pp (b).
- Erdem, A. and Ozsoz, M.**, 2002, A review: Electrochemical DNA biosensors based on DNA-drug interactions, *Electroanal.*, 14: 965-974 pp.
- Erdem, A., Kerman, K., Meric, B., Ozkan, D., Kara, P. and Ozsoz, M.**, 2002, DNA biosensor for microcystis spp. Sequence detection by using methylene blue and ruthenium complexes as hybridisation labels, *Turk. J. Chem.*, 26: 851-862 pp.
- Erdem, A., Isabel, P.M., Del Valle, M. and Alegret, S.**, 2004, Rigid carbon composites: a new transducing material for label-free electrochemical genosensing, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 567: 29-37 pp.
- Erdem, A., Ariksoysal, D.O., Karadeniz, H., Kara, P., Sengonul, A., Sayiner, A.A. and 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 (a).
- Erdem, A., Kosmider, B., Osiecka, R., Zyner, E., Ochocki, J. and Ozsoz, M.**, 2005, Electrochemical genosensing of the interaction between the potential chemotherapeutic agent, cis-bis(3-aminoflavone) dichloroplatinum(II) and DNA in comparison with cis-DDP, *J. Pharm. And Biomed. Anal.*, 38:645-652 pp (b).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Erdem A., Papakonstantinou, P. and Murphy, H.,** 2006, Direct DNA Hybridization at Disposable Graphite Electrodes Modified with Carbon Nanotubes, *Anal. Chem.*, 78:6656-6659 pp (a).
- Erdem, A., Pividori, M.I., Lermo, A., Bonanni, A., del Valle, M. and Alegret, S.,** 2006, Genomagnetic assay based on label-free electrochemical detection using magneto-composite electrodes, *Sensors and Actuators B-Chemical*, 114: 591-598 pp (b).
- Erdem, A., Sayar, F., Karadeniz, H., Guven, G., Ozsoz, M. and Piskin, E.,** 2007, Development of Streptavidin Carrying Magnetic Nanoparticles and Their Applications in Electrochemical Nucleic Acid Sensor Systems, *Electroanal.*, 19:798-804 pp.
- Erdem, A.,** 2007, Nanomaterial-based electrochemical DNA sensing strategies, *Talanta*, 74:318–325 pp (a).
- Erdem, A.,** 2007, Chapter 19: Genosensor technology for electrochemical sensing of nucleic acids by using different transducers, *Comprehensive Analytical Chemistry*, 49:403-411 pp (b).
- 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(3-5):464-471 pp .
- Erdem, A. and Ozsoz, M.,** 2011, Nucleic Acids as Biorecognition Element in Biosensor Development, Nucleic Acid Biosensors for Environmental Pollution Monitoring, Ed. by Ilaria Palchetti and Marco Mascini, *Royal Society of Chemistry (UK)*, 2:17-33 p.
- Erdem, A., Muti, M., Karadeniz, H., Congur, G. and 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 (a).
- Erdem, A., Muti, M., Karadeniz, H., Congur, G. and Canavar, E.,** 2012, Electrochemical Biosensors for Screening of Toxins and Pathogens, NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology: Portable Chemical Sensors: Weapons Against Bioterrorism, Ed by Dimitrios P. Nikolelis, *Springer*, 18:323-334 p (b).
- Erdem, A., Muti, M., Papakonstantinou, P., Canavar, E., Karadeniz, H., Congur, G. and Sharma, S.,** 2012, Graphene oxide integrated sensor for electrochemical monitoring of mitomycin C–DNA interaction, *Analyst*, 137:2129-2135pp (c).
- Erdem, A., Kuralay, F., Cubukcu, H.E., Congur, G., Karadeniz, H. and Canavar, E.,** 2012, Sensitive sepiolite-carbon nanotubes based disposable electrodes for direct detection of DNA and anticancer drug–DNA interactions, *Analyst*, 137:4001-4004 pp (d).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Erdem, A. and Congur, G.**, 2013, Impedimetric detection of in situ interaction between anti-cancer drug bleomycin and DNA, *Internatiol Journal Of Biological Macromolecules*, 61:295-301 pp.
- Evans, A.**, 1991, Potentiometry and ISE, ACOL, London, 106-198p.
- Garcia-Canas, V., Cifuentes, A. and Gonzales, R.**, 2004, Detection of genetically modified organisms in foods by DNA amplification techniques, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 425-436 pp.
- Ghicaa, M.E., Pauliukaite, R., Fatibello-Filho, O. and Bretta, C.M.A.**, 2009, Application of functionalised carbon nanotubes immobilised into chitosan films in amperometric enzyme biosensors, *Sensors and Actuators B*, 142:308-315 pp.
- Gooding, J.J.**, 2002, Electrochemical DNA hybridization biosensors, *Electroanal.* 14: 1149- 1156 pp.
- Guo, X., Song Z., Sun, J. and Song, J.**, 2011, Interaction of calf thymus dsDNA with anti-tumor drug tamoxifen studied by zero current potentiometry, *Biosensors and Bioelectronics*, 26:4001-4005 pp.
- Hall, E.A.H.**, 1990, Biosensors, Ch.1: Biosensors in context, Open University Press, UK; 3-30p.
- Hu, Y., Zhang, Z., Li, J., Zhang, H., Luo, L. And Yao, S.**, 2012, Electrochemical imprinted sensor for determination of oleanic acid based on poly (sodium 4-styrenesulfonate-co-acrylic acid)-grafted multi-walled carbon nanotubes-chitosan and cobalt hexacyanoferrate nanoparticles, *Biosensors and Bioelectronics*, 31:190-196 pp (a).
- Hu, Y., Zhang, Z., Zhang, H., Luo, L. and Yao, S.**, 2012, Selective and sensitive molecularly imprinted sol-gel film based electrochemical sensor combining mercaptoacetic acid-modified PbS nanopartic les with Fe₃O₄ @ Au-multi walled carbon nanotubes-chitosan, *J Solid State Electrochem*, 16:857-867 pp (b).
- Iijima, S.**, 1991, Helical microtubules of graphitic carbon, *Nature*, 354:56-58 pp.
- Jelen, F., Erdem, A. and Palecek, E.**, 2002, Cyclic voltammetry of echinomycin and its interaction with double-stranded and single-stranded DNA adsorbed at the electrode, *Bioelectrochemistry*, 55:165-167 pp.
- Ju, H.X. and Zhao, H.**, 2005, Electrochemical biosensors for DNA analysis, *Frontiers in Bioscience*, 10:37-46 pp.
- Kalanur, S., Katrahalli, S.U. and Seetharamappa, J.**, 2009, Electrochemical studies and spectroscopic investigations on the interaction of an anticancer drug with DNA and their analytical applications, *J. Electroanal. Chem.*, 636:93-97 pp.
- Kalogianni, D.P., Koraki, T., Chiristopoulos, T.K. and Ioannou, P.C.**, 2006, Nanoparticle-based DNA biosensor for visual detection of genetically modified organisms, *Biosens. and Bioelectron.*, 21(7):1069-1076 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kara, P., Kerman, K., Ozkan, D., Meric, B., Erdem, A., Nielsen, P.E. and Ozsoz, M.**, 2002, Label free and label based electrochemical detection of hybridization by using methylene blue and peptide nucleic acid probes at chitosan modified carbon paste electrodes, *Electroanal.*, 14(23):1-6 pp (a) .
- Kara, P., Kerman, K., Ozkan, D., Meric, B., Erdem, A., Ozkan, Z. and Ozsoz, M.**, 2002, Electrochemical genosensor for the detection of interaction between methylene blue and DNA, *Electrochem. Commun.*, 4 : 705-709 pp (b).
- Karabaliev, M. and Kocheva, V.**, 2003, Electrochemical investigations of cholesterol enriched glassy carbon supported thin lipid films, *Biophysical Chemistry*, 103:157–167 pp.
- Karadeniz, H., Gulmez, B., Sahinci, F., Erdem, A., Irem Kaya, G., Unver, N., Kivcak, B. and Ozsoz, M.**, 2003, Disposable electrochemical biosensor for the detection of the interaction between DNA and lycorine based on guanine and adenine signals, *J. Pharm. and Biomed. Anal.*, 33:295-302 pp.
- Karadeniz, H., Gulmez, B., Erdem, A., Jelen, F., Ozsoz, M. and Palecek, E.**, 2006, Echinomycin and cobalt-phenanthroline as redox indicators of DNA hybridization at gold electrodes, *Front. Biosci.*, 11:1870-1877 pp.
- Karadeniz, H., Alparslan, L., Erdem, A. and Karasulu, E.**, 2007, Application of Novel Drug Delivery System based on Electrochemical Detection for Interaction of Mitomycin C, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45:322–326 pp.
- Karadeniz, H., Erdem, A. and Caliskan, A.**, 2008, Electrochemical Monitoring of DNA Hybridization by Multiwalled Carbon Nanotube Based Screen Printed Electrodes, *Electroanalysis* 20(17):1932-1938 pp.
- Katz, E. and Willner, I.**, 2004, In Technology and Performance, V. Mirsky (Ed.), Springer- Verlag, Berlin. 67–106p.
- Kayaalp, S.O.**, 1991, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi Farmakoloji, 8. Baskı, Ankara; Hacettepe-TAŞ . Cilt 1:1015p.
- Kerman, K., Morita, Y., Takamura, Y. and Tamiya, E.**, 2003, Label-free electrochemical detection of DNA hybridization on gold electrode, *Electrochem. Commun.*, 5(10):887-891 pp.
- Kerman, K., Meric, B., Ozkan, D., Kara, P., Jelen, F., Karadeniz, H., Ozkan, Z. and Ozsoz, M.**, 2004, DNA Sensing On Mercury And Carbon Electrodes By Using Meldola Blue As The Electrochemically Active Intercalator, *Turk. J. Chem.*, 28:1-11 pp.
- Kim, S.N., Rusling, J.F. and Papadimitrakopoulos, F.**, 2007, Carbon Nanotubes for Electronic and Electrochemical Detection of Biomolecules, *Adv. Mater.*, 19: 3214-3228 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kizek, R., Adam, V., Hrabeta, J., Eckschlager, T., Smutny, S., Burda, J.V., Frei, E. and Stiborova, M.,** 2012, Anthracyclines and ellipticines as DNA-damaging anticancer drugs: Recent advances, *Pharmacology & Therapeutics* 133:26-39 pp.
- Kuralay, F., A. Erdem, S. Abacı, H. Özyörük, A. Yıldız,** 2008, Electrochemical biosensing of DNA immobilized Poly(Vinylferrocenium) modified electrode, *Electroanalysis*, 20:2563-2570 pp.
- Kuralay, F., Erdem, A., Abacı, S., Özyörük, H. and Yıldız, A.,** 2009, Poly(vinylferrocenium) coated disposable pencil graphite electrode for DNA hybridization, *Electrochem. Commun.*, 11:1242.-1246 pp.
- Kuralay, F., Vural, T., Bayram, C., Denkbaz, E.B. and Abacı, S.,** 2011, Carbon nanotube–chitosan modified disposable pencil graphite electrode for Vitamin B 12 analysis, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 87:18-22 pp.
- Labuda, J., Brett, A.M.O., Evtugyn, G., Fojta, M., Mascini, M., Ozsoz, M., Palchetti, I., Paleček, E. and Wang, J.,** 2010, Electrochemical nucleic acid-based biosensors: Concepts, terms, and methodology (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, 82(5):1161-1187 pp.
- Laschi, S., Bulukin, E., Palchetti, I., Cristea, C. and Mascini, M.,** 2008, Disposable electrodes modified with multi-wall carbon nanotubes for biosensor applications, *ITBM-RBM*, 29:202–207 pp.
- Li, N., Ma, Y., Yang, C., Guo, L. and Yang, X.,** 2005, Interaction of anticancer drug mitoxantrone with DNA analyzed by electrochemical and spectroscopic methods, *Biophys. Chem.*, 116:199-205 pp (a).
- 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 (b).
- Li, C.Z., Karadeniz, H., Canavar, E. and Erdem, A.,** 2012, Electrochemical sensing of label free DNA hybridization related to breast cancer 1 gene at disposable sensor platforms modified with single walled carbon nanotubes, *Electrochimica Acta*, 82:137-142 pp.
- Lin, Y., Taylor, S., Li, H., Fernando, K.A.S., Qu, L., Wang, W., Gu, L., Zhou, B. and Sun, Y.P.,** 2004, Advances toward bioapplications of carbon nanotubes *J. Mater. Chem.*, 14:527-541 pp.
- Lin, J., He, C., Zhao, Y., Zhang, S.,** 2009, One-step synthesis of silver nanoparticles/carbon nanotubes/chitosan film and its application in glucose biosensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 137:768-773 pp.
- Li, Q.N., Wu, X.J., Zhao, J., Wu, C.Y. and Wang, X.M.,** 2011, Real-time detection of the interaction between anticancer drug daunorubicin and cancer cells by Au-MCNT nanocomposites modified electrodes, *Sci China Chem*, 54(5):812-815 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lucarelli, F., Marrazza, G., Palchetti, I., Cesaretti, S. and Mascini, M.,** 2002, Coupling of an indicator-free electrochemical DNA biosensor with polymerase chain reaction for the detection of DNA sequences related to the apolipoprotein E, *Anal. Chim. Acta*, 469:93-99 pp (a).
- Lucarelli, F., Palchetti, I., Marazza, G. and Mascini, M.,** 2002, Electrochemical DNA biosensor as a screening tool for the detection of toxicants in water and wastewater samples, *Talanta*, 56:949-957 pp (b).
- Luo, X.L., Xu, J.J., Wang, J.L. and Chen, H.Y.,** 2005, Electrochemically deposited nanocomposite of chitosan and carbon nanotubes for biosensor application, *Chem. Commun.*, 16:2169-2171 pp.
- Mandong, G., Yanqing, L., Hongxia, G., Xiaoqin, W. and Lifang, F.,** 2007, Electrochemical detection of short sequences related to the hepatitis B virus using MB on chitosan-modified CPE, *Bioelectrochemistry*, 70:245-249 pp.
- Marazza, G., Chianella, I., Mascini, M.,** 1999, Disposable DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring, *Anal. Chim. Acta*, 387:297-307 pp.
- Marin, D., Perez, P., Teijeiro, C. and Palecek, E.,** 1998, Interactions of surfaceconfied DNA with acid-activated mitomycin C, *Biophysical Chemistry*, 75:87-95 pp.
- Marin, D., Valera, R., Red, E. de la and Teijeiro., C.,** 1997, Electrochemical study of antineoplastic drug thiotepa hydrolysis to thiol form and thiotepa-DNA interactions, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 44:51-56 pp.
- Mascini, M.,** 2001, Affinity electrochemical biosensors for the pollution control, *Pure Appl. Chem.*, 73(1): 23-30 pp.
- Mehdinia, A., Kazemi, S.H., Bathaie, Z. S., Alizadeh, A., Shamsipur, M. and Mousavi, M. F.,** 2008, Electrochemical studies of DNA immobilization onto the azide-terminated monolayers and its interaction with taxol, *Anal. Biochem.*, 375:331-338 pp.
- Mertins ,O., Messina, P., Labbé, E., Vivier, V., Arbault, S., Lemaître, F., Buriez, O. And Amatore, C.,** 2011, Electrochemical analysis of the interactions and reactivity of ferrocene-based drugs with a lipid environment, *Inorganica Chimica Acta*, 374:59-68 pp.
- Mese ,F., Congur, G. and Erdem, A.,** 2014, Voltammetric and impedimetric detection of DNA hybridization by using dendrimer modified graphite electrodes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 719:92-97 pp.
- Mikkelsen, S.R.,** 1996, Electrochemical biosensors for DNA sequence detection-a review, *Electroanal.*, 8(1):15-19 pp.
- Millan, K.M. and Mikkelsen, S.R.,** 1993, Sequence-selective biosensor for DNA based on electroactive hybridization indicators, *Anal. Chem.*, 65:2317-2323 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Millan, K.M., Spurmanis, A.J. and Mikkelsen, S.R.,** 1992, Covalent immobilization of DNA onto glassy carbon electrodes, *Electroanalysis*, 4:929-932 pp.
- Miller, J.N. and Miller, J.C.,** 2000, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, Pearson Education, London.
- Muti, M., Kuralay, F. and Erdem, 2012,** 'Single-walled carbon nanotubes-polymer modified graphite electrodes for DNA hybridization, *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces*, 91:77-83 pp.
- Muti, M., Sharma, S., Erdem, A. and Papakonstant, P.,** 2011, Electrochemical monitoring of nucleic acid hybridization by single-use graphene oxide-based sensor, *Electroanalysis*, 23:272-279 pp.
- Oliveira Brett, A.M., Macedo, T.R.A., Raimundo, D., Marques, M.H. and Serrano, S.H.P.,** 1998, Voltammetric behaviour of mitoxantrone at a DNA-biosensor, *Biosens. Bioelectron.*, 13, 861-867 pp.
- Oliveira, I.R.W.Z. de and Vieira, I.C.,** 2006, Immobilization procedures for the development of a biosensor for determination of hydroquinone using chitosan and gilo (*Solanum gilo*), *Enzyme and Microbial Technology*, 38:449-456 pp.
- Ozkan, D., Erdem, A., Kara, P., Kerman, K., Gooding, J.J., Nielsen, P.E. and Ozsoz, M.,** 2002, Electrochemical detection of hybridization using peptide nucleic acids and methylene blue on self-assembled alkanethiol monolayer modified gold electrodes, *Electrochem. Commun.*, 4(10):796-802 (a) pp.
- Ozkan, D., Erdem, A., Kara, P., Kerman, K., Gooding, J.J., Nielsen, P.E. and Ozsoz, M.,** 2002, Voltammetric determination of DNA hybridization using methylene blue and self-assembled alkanethiol monolayer on gold electrodes, *Anal. Chim. Acta*, 462(1): 39-47 pp (b).
- Ozkan, D., Karadeniz, H., Erdem, A., Macsini, M. and Ozsoz, M.,** 2004, Electrochemical genosensor for Mitomycin C-DNA interaction based on guanine signal, *J. Pharma. and Biomed. Anal.*, 35(4):905-912pp.
- Ozsoz, M., Erdem, A., Kara, P., Kerman, K. and Ozkan, D.,** 2002, Electrochemical biosensor for the detection of interaction between arsenic trioxide and DNA based on guanine signal, *Electroanal.*, 15:613-619 pp.
- Ozsoz, M., Erdem, A., Kerman, K., Ozkan, D., Tugrul, B., Topcuoglu, N., Erken, H. and 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.,** 1988, New trends in electrochemical analysis of nucleic acids, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 20:179-194 pp.
- Palecek, E., Fojta, M., Tomschik, M. and Wang, J.,** 1998, Electrochemical biosensors for DNA hybridization and DNA damage, *Biosensors & Bioelectronics*, 13:621-628 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Palecek, E.**, 1995, Nucleic Acids: Electrochemical And Immunochemical Methods, Encyclopedia of Analytical Science (Alan Townshend (Ed)), London, Academic press, Vol. 6: s. 3600-3609 pp.
- Palecek, E. and Fojta, M.**, 2001, DNA hybridization and damage, *Anal. Chem.*, 73:75A-83A pp.
- Paleček, E., and Jelen, F.**, 2005, In Electrochemistry of Nucleic Acids and Proteins. Towards Electrochemical, Sensors for Genomics and Proteomics, E. Paleček, F. Scheller, J. Wang, (Eds.) Elsevier, Amsterdam 74–174p.
- Perez, P., Teijeiro, C. and Marin, D.**, 1999, Interactions of surface-confined DNA with electroreduced mitomycin C comparison with acid-activated mitomycin C, *Chemico-Biological Interactions*, 117:65-81 pp.
- Piedade, J.A.P., Fernandes, I.R. and Oliveira-Brett, A.M.**, 2002, Electrochemical sensing of DNA–adriamycin interactions, *Bioelectrochemistry*, 56, 81-83 pp.
- Pietrzyk, D.J. and Frank, C.W.**, 1979, Analytical Chemistry, 2. Press, Academic press: s. 226- 239 pp.
- Pingarron, J.M., Yanez-Sedeno, P. and Gonzales-Cortes, A.**, 2008, Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors, *Electrochimica Acta*, 53:5848-5866 pp.
- Qian, L. and Yang, X.**, 2006, Composite film of carbon nanotubes and chitosan for preparation of amperometric hydrogen peroxide biosensor, *Talanta*, 68:721-727 pp.
- Rauf, S., Gooding, J., Akhtar, J.K., Ghauri, M.A., Rahman, M., Anwar M.A., and Khalid, A. M.**, 2005, Electrochemical approach of anticancer drugs–DNA interaction, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37:205-217 pp.
- Ravera, M., Gabano, E., Baracco, S. and Osella, D.**, 2009, Electrochemical evaluation of the interaction between antitumoral titanocene dichloride and biomolecules, *Inorganica Chimica Acta*, 362:1303-1306 pp.
- Richardson, C.L. and Springfield, G.E.S.**, Intercalation inhibition assay for compounds that interact with DNA or RNA, Amerikan patent no; 4,257,774 (24 Mart 1998).
- Rivas, G.A., Rubianes, M.D., Rodriguez, M.C., Ferreyra, N.F., Luque, G.L., Pedano, M.L., Miscoria, S.A. and Parrado, C.**, 2007, Carbon nanotubes for electrochemical biosensing, *Talanta*, 74:291-298 pp.
- Shen, Q., Wang, X. and Fu, D.**, 2008, The amplification effect of functionalized gold nanoparticles on the binding of anticancer drug dacarbazine to DNA and DNA bases, *Applied Surface Science*, 255:577-580 pp.
- Sheng, Q., Luo, K., Li, L. And Zheng, J.**, 2009, Direct electrochemistry of glucose oxidase immobilized on NdPO₄ nanoparticles/ chitosan composite film on glassy carbon electrodes and its biosensing application, *Bioelectrochemistry* 74:246-253 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Shieh, Y., Tu, Y., Wang, T., Lin, R. and Yang, C.,** 2013, Apparent electrocatalytic activities of composites of self-doped polyaniline, chitosan, and carbon nanotubes, *J. Electroanal. Chem.* 704:190-196 pp.
- Siddiquee, S., Yusof, N.A., Salleh, A.B., Tan, S.G. and Bakar, F.A.,** 2012, Development of electrochemical DNA biosensor for *Trichoderma harzianum* based on ionic liquid/ZnO nanoparticles/chitosan/gold electrode, *J Solid State Electrochem*, 16:273-282 pp.
- Skoog, D.A., West, D.A., Holler, F. J.,** 1996, Analitik Kimyanın Temelleri, Çeviri editörleri; Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu. Bilim Yayıncılık, 7. Baskı, 303-495 pp.
- Stani, Z., and Girousi, S.,** 2008, Electrochemical study of the interaction between dsDNA and copper(I) using carbon paste and hanging mercury drop electrode, *Talanta* 76:116–12 pp.
- Sun, W., Qin, P., Gao, H., Li, G. and Jiao K,** 2010, Electrochemical DNA biosensor based on chitosan/nano- V_2O_5 /MWCNTs composite film modified carbon ionic liquid electrode and its application to the LAMP product of *Yersinia enterocolitica* gene sequence, *Biosensors and Bioelectronics.*, 25:1264-1270 pp.
- Thevenot, D.R., Toth, K., Durst, R.A. and Wilson, G.S.,** 1999, Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification, *Pure and Applied Chemistry*, 71:2333-2348 pp.
- Tian, X., Li, F., Zhu, L., and Ye, B.,** 2008, Study on the electrochemical behavior of anticancer herbal drug rutin and its interaction with DNA, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 621(1):1-6 pp.
- Tomasz, M.,** 1995, Mitomycin C: small, fast and deadly (but very selective), *Chemistry and Biology* 2:575-579 pp.
- Tuncer, C., Canavar, E., Congur, G., Karadeniz, H., Erdem, A. And Butun., V.,** 2012, Synthesis and characterization of water-insoluble statistical copolymer and its application in the development of electrochemical DNA sensor, *Talanta*, 100: 270-275 pp.
- Turner, A.P.F.,** 1987, Biosensors: Fundamentals and Applications, Turner, A. P. F., Karube, I. and Wilson, G. S. (Ed); Oxford University Press, Oxford, v-vii p.
- Verweij, J. And Pinedo, H.M.,** 1990, Mitomycin C: mechanism of action, usefulness and limitations. *Anticancer Drugs*, 1(1):5-13 pp.
- Vural, T., Kuralay, F., Bayram, C., Abaci, S. and Denkbaz, E.B.,** 2010, Preparation and physical/electrochemical characterization of carbon nanotube–chitosan modified pencil graphite electrode, *Applied Surface Science*, 257: 622–627 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wang, C.Y., Tan, X.R., Chen, S.H., Hu, F.X., Zhong, H.A. and Zhang, Y.,** 2012, The Construction of Glucose Biosensor Based on Platinum Nanoclusters -Multiwalled Carbon Nanotubes Nanocomposites, *Appl Biochem Biotechnol*, 166:889–902 pp.
- Wang, J.,** 2000, Survey and summary: From DNA biosensors to gene chips, *Nucleic Acids Res.*, 28:3011-3016 pp.
- Wang, J.,** 2002, Electrochemical nucleic acid biosensors, *Analytica Chimica Acta* 469: 63–71 pp.
- Wang, J.,** 2005, Nanomaterial-based electrochemical biosensors, *Analyst*, 130: 421–426 pp.
- Wang, J., Cai, X., Rivas, G. and Shiraishi, H.,** 1996, Stripping potentiometric transduction of DNA hybridization processes, *Anal. Chim. Acta*, 326:141-147 pp (a)
- Wang, J., Rivas, G., Luo, D., Cai, X., Valera, F. S., Dontha, N., Farias, P. A. M. and Shiraishi, H.,** 1996, DNA Biosensor for the detection of hydrazines, *Anal. Chem.*, 68: 2251-2254 pp (b).
- Wang, J., Fernandes, J.R. and Kubota, L.T.,** 1998, Polishable and renewable DNA hybridization biosensors, *Anal. Chem.*, 70:3699-3702 pp.
- Wang, J., Kawde, A. N. , Erdem, A. and Salazar, M.,** 2001, 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.,** 2002, Genomagnetic electrochemical assays of DNA hybridization, *Talanta*, 56:931-938 pp.
- Wang, L.L., Lin, B. Ye,** 2006, Electrochemical studies of the interaction of the anticancer herbal drug emodin with DNA, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42:625629 pp (a).
- Wang, W., Wu, S.F. and Xie, F.,** 2006, An electrochemical sensor of non-electroactive drug 6-thioguanine based on the dsDNA/AET/Au, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 120, 238-244 pp (b).
- Wang, Q., Zhang, B., Lin, X. and Weng, W.,** 2011, Hybridization biosensor based on the covalent immobilization of probe DNA on chitosan–mutiwalled carbon nanotubes nanocomposite by using glutaraldehyde as an arm linker, *Sensors and Actuators B*, 156:599-605 pp.
- Wang, X., Yang, T., Feng, Y., Jiao, K. And Li, G.,** 2009, novel hydrogen peroxide biosensor based on the synergistic effect of Gold-Platinum alloy Nanoparticles/Polyaniline Nanotube/Chitosan nanocomposite membrane, *Electroanalysis*, 21(7):819-825 pp.
- Wang, Y., Wei, W., Zeng, J., Liu, X. and Zeng, X.,** 2008, Fabrication of a copper nanoparticle= chitosan = carbon nanotube-modified glassy carbon electrode for electrochemical sensing of hydrogen peroxide and glucose, *Microchim Acta*, 160: 253–260 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Weber, J.E., Pillai, S., Ram, M.K., Kumar, A. and Singh, S.R.,** 2011, Electrochemical impedance-based DNA sensor using a modified single walled carbon nanotube electrode, *Materials Science and Engineering C*, 31:821-825 pp.
- Xue, W. and Warshawsky, D.,** 2005, Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: *Toxicology and Applied Pharmacology* 206:73-93 pp.
- Yang, K. and Zhang, C.,** 2011, Simple detection of nucleic acids with a single-walled carbon-nanotube-based electrochemical biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 28:257-262 pp.
- Yapasan, E., Caliskan, A., Karadeniz, H. and Erdem, A.,** 2010, Electrochemical investigation of biomolecular interactions between platinum derivatives and DNA by carbon nanotubes modified sensors, *Materials Science and Engineering: B*, 169: 169-173 pp.
- Yıldız, A. and Genç, Ö.,** 1993, Enstrümental Analiz, Hacettepe Yayınları, A-64, s. 289-384 pp.
- Yi, H., Wu, L.Q., Bentley, W.E., Ghodssi, R., Rubloff, G.W., Culver, J.N. and Payne, G.F.,** 2005, Biofabrication with Chitosan, *Biomacromolecules* 6:2881-2894 pp.
- Zhang, W., Yang, T., Huang, D., Jiao, K., Li and G.,** 2008, Synergistic effects of nano-ZnO/multi-walled carbon nanotubes/chitosan nanocomposite membrane for the sensitive detection of sequence-specific of PAT gene and PCR amplification of NOS gene, *Journal of Membrane Science* 325:245-251 pp.
- Zhou, C., Dong, Y., Li, Z., Xu, X. and Zhen, L.,** 2010, Electrochemistry of magnolol and interaction with DNA, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 642:115-119 pp.
- Zhou, H., Sun, Z., Hoshi, T., Kashiwagi, Y., Anzai, J. and Li, G.,** 2005, Electrochemical studies of danthron and the DNA-danthron interaction, *Biophys. Chem.* 114:21-26 pp.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Pembe Ece CANAVAR

Doğum Yeri : Aydın

Tarihi : 15.08.1984

Uyruğu : T.C.

İletişim Adresi : ececanavar@yahoo.com

ÖĞRENİM DURUMU

Yüksek Lisans , 2010-2014 , Ege Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Başlığı: Karbon Nanotüp Modifiye Sensörlerle Nükleik Asit Etkileşimlerinin Elektrokimyasal Tayini (Tez Danışmanı: Prof. K.Arzum ERDEM GÜRSAN)

Lisans, 2002-2008, Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü

Tez Başlığı: Bazı Bacillus spp. İzolatlarının antifungal aktivitelerinin incelenmesi (Tez Danışmanı: Prof. Rengin ELTEM)

Lise,1998-2002, Aydın Adnan Menderes Anadolu Lisesi

ÇALIŞTIĞI KURULUŞLAR

Ürün Mühendisi , ArGE Birimi, Hakkı Usta Oğulları Mak. San. Tic. Ltd. Şti. **AYDIN, 2014-....**

Bölüm sorumlusu, Kimyasal Analiz Birimi, Ege CHELAB Gıda ve Endüstriyel Analiz Laboratuvarları A.Ş. **İZMİR, 2014**

Bölüm sorumlusu, Kimyasal Analiz Birimi, Ekosmyrna Özel Gıda Kontrol Lab. **İZMİR, 2013**

Bölüm sorumlusu, Kimyasal Analiz Birimi, Aydın Ticaret Borsası
Laboratuvar Hizmetleri **AYDIN, 2012-2013**

Aktif Satış Elemanı, Bioered Lab. Hiz. Ve Bil. Sistemleri **İZMİR, 2009**

ALDIĞI EĞİTİMLER VE ÖDÜLLER

Türkiye İhracatçılar Meclisi (TIM) Uluslararası Gıda Ar-Ge Proje
Yarışması 3.lük ödülü /**2013 İZMİR**

Ölçüm Belirsizliği, Metod ve Validasyon Eğitimi / **2012 AYDIN**

Toplam Kalite Yönetim Sistemleri Eğitimi TS-EN-ISO 22000, TS-EN-ISO
14000, TS-EN-ISO 9000 /**2006-2007 İZMİR**

Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi TS-EN-ISO 9001:2000/**2005 İZMİR**

SEMPOZYUM , KONGRELER VE BİLDİRİLER

25. Ulusal Kimya Kongresi **Erzurum / 2011**

Poster Bildirisi: Karbon Nanotüp-Polimer Kompozit Nanomalzemelerle
Modifiye Elektrotların Nükleik Asit Etkileşimlerine Yönelik Uygulamaları

Türkiye Nanobilim ve Nanoteknoloji Konferansı, **İstanbul/ 2011**

Poster Bildirisi: Estrone Specific Molecularly Imprinted Polymeric
Nanospheres: Synthesis, characterization and applications in electrochemical
sensor

International Symposium on Drug Research and Development (DRD),
Antalya / 2011

Poster Bildirisi: Carbon Nanotube-Biopolymer Composite Modified
Electrodes For Electrochemical Monitoring Of Interaction Between Mitomycin C
and DNA

BMBS COST Action B28, **İstanbul / 2010**

Poster Bildirisi: Disposable Graphite Based Sensor For Electrochemical
Monitoring of Interaction Between Mitomycin C and DNA

I.Kök Hücre Kursu ve V. Kök Hücre Sempoyumu, **Ankara / 2010**

24. Ulusal Kimya Kongresi, **Zonguldak / 2010**

Poster Bildirisi:Mitomisin C - DNA Etkileşiminin Elektrokimyasal DNA Sensörleri ile Analizi

YAYINLAR

Canavar, E., Ekşin, E. and Erdem, A., 2014, Electrochemical monitoring of interaction between Mitomycin C and DNA at chitosan-carbon nanotube composite modified electrodes, *Turkish Journal of Chemistry*, DOI: 10.3906/kim-1402-11

Congur, G., Senay, H., Turkcan, C., Canavar, E., Erdem, A. and Akgol, S., 2013, Estrone specific molecularly imprinted polymeric nanospheres: synthesis, characterization and applications for electrochemical sensor development, *Comb Chem High Throughput Screen*, 16:503-510.

Tuncer, C., Canavar, E., Congur, G., Karadeniz, H., Erdem, A. and Butun, V., 2012, Synthesis and characterization of water-insoluble statistical copolymer and its application in the development of electrochemical DNA sensor, *Talanta*, 100: 270-275.

Li, C.Z., Karadeniz, H., Canavar, E. and Erdem, A., 2012, Electrochemical sensing of label free DNA hybridization related to breast cancer 1 gene at disposable sensor platforms modified with single walled carbon nanotubes, *Electrochimica Acta*, 82:137-142.

Erdem, A., Muti, M., Karadeniz, H., Congur, G. and 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 .

Erdem, A., Kuralay, F., Cubukcu, H.E., Congur, G., Karadeniz, H. and Canavar, E., 2012, Sensitive sepiolite-carbon nanotubes based disposable electrodes for direct detection of DNA and anticancer drug–DNA interactions, *Analyst*, 137:4001-4004 .

Erdem, A., Muti, M., Papakonstantinou, P., Canavar, E., Karadeniz, H., Congur, G. and Sharma, S., 2012, Graphene oxide integrated sensor for electrochemical monitoring of mitomycin C–DNA interaction, *Analyst*, 137:2129-2135.

Erdem, A., Karadeniz, H., Canavar, 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(3):502-511.

Canavar, E., Kuralay, F. and Erdem, A., 2001, Interaction of Mitomycin C with DNA Immobilized onto Single-walled Carbon Nanotube/Polymer Modified Pencil Graphite Electrode, *Electroanalysis*, 23(10):2343-2349.

DİĞER KAYNAKLARDA YAYINLANAN YAYINLARI

Erdem, A., Congur, G., Canavar, E. and G., Karadeniz, 2014, Electrochemical detection of microRNAs using genomagnetic assay combination with disposable graphite sensor technology, *Chemical Sensors*, 4: 21-25.

Erdem, A., Canavar, P.E., Karadeniz, H. and Congur, G., 2011, New Trends in Electrochemical Protein Sensors, *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 39(3):231–239

Erdem, A., Congur, G., Karadeniz, H. and Canavar, P.E., 2011, The recent progress in aptasensor Technologies, *Cehmical Sensors* 1:13

KİTAP BÖLÜMÜ

Erdem, A., Muti, M., Karadeniz, H., Çongur, G. and Canavar, E., 2012, Chapter 18: Electrochemical Biosensor For Screening Of Toxins And Pathogens; *Portable Chemical Sensors, Weapons Against Bioterrorism* NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology, Nikolelis, Dimitrios P. (Ed.), 323-333p.