

**ÇOK İŞLEVİLİ BİYONANOPLATFORMLARIN
GELİŞTİRİLMESİ VE BİYOKATALİZ İLE
BİYOBELLEK UYGULAMALARI**

Şükriye Nihan KARUK

Yüksek Lisans Tezi

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Aralık-2014

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Şükriye Nihan Karuk'un “Çok İşlevli Biyonanoplatformların Geliştirilmesi ve Biyokataliz ile Biyobellek Uygulamaları” başlıklı İleri Teknolojiler Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi 08.12.2014 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye(Tez Danışmanı) :	Prof. Dr. RIDVAN SAY	
Üye	: Yard. Doç. Dr. REMZİYE GÜZEL	
Üye	: Yard. Doç. Dr. SERPİL ÖZKAYA YAVUZ	

**Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarihli ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.**

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇOK İŞLEVİLİ BİYONANOPLATFORMLARIN GELİŞTİRİLMESİ VE BİYOKATALİZ İLE BİYOBELLEK UYGULAMALARI

Şükriye Nihan KARUK
Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Rıdvan SAY
2014, 68 sayfa

Bu tezde; apoferritin biyomolekülünün ana iskelet olarak kullanılması ve farklı metal atomlarının bu proteinin boşluğuna gömülmesi yoluyla elde edilen birden fazla yüze ve fonksiyona sahip (Janus) biyonanoyapılar sentezlenmiştir. Bu biyonanoyapıların eldesi fotosensitif aminoasit monomerleriyle çapraz bağlanma yaklaşımı kullanılarak (ANADOLUCA metodu) sağlanmıştır.

Bu çalışmada ilk olarak; nanoapoferritinlerin sentezi, bis (2-2'-bipiridil) MATyr-MATyr-rutenyum (II) fotosensitif monomeri eşliğinde mikroemülsiyon yoluyla başarılı, ardından nanoapoferritinlerin kafes boşluklarına indirgeme yoluyla Pt, Fe, Mn, Cu metalleri ile Pt/Cu, Mn/Fe, Pt/Cu/Mn/Fe, Ag/Cu/Mn/Fe metal karışım kombinasyonları düzenlenmiş ve bu çok fonksiyonlu nano-ferritin yapılar karakterize edilmiştir.

Çalışmanın son aşamasında; Janus modeli biyonanoyapıların fonksiyonelliği, peroksidaz enzim kinetiği ve elektrokimyasal temelli yaklaşımlarla ortaya konulmuştur. Substrat ve enzim derişimlerinin bu biyonanoyapıların aktivitelerine etkileri incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Apoferritin, Biyonanoyapı, Ferritin, Janus Nanoyapı, Protein Nanopartiküller

ABSTRACT

Master of Science Thesis

IMPROVEMENT OF MULTIFUNCTIONAL BIONANOPLATFORMS; BIOCATALYSIS AND BIOMEMORY APPLICATIONS

Şükriye Nihan KARUK
Anadolu University
Institute of Science
Department of Advanced Technology

Supervisor: Prof. Dr. Rıdvan SAY
2014, 68 sayfa

In this thesis; bionanostructures which have multi faces and functionalities (Janus) have synthesized using apoferritin biomolecules as main structure and embedding of various metal atoms into lattice of this protein. These bionanostructures have obtained using photosensitive amino acid-monomers linkage method (ANADOLUCA).

In this study, firstly, the synthesis of nanoapoferritins has achieved in the presence of bis (2-2'-bipyridil) MATyr-MATyr-rutenyum (II) photosensitive monomers by microemulsion. Then, Pt, Fe, Mn, Cu metals and Pt/Cu, Mn/Fe, Pt/Cu/Mn/Fe, Ag/Cu/Mn/Fe metal mixture combinations have organised into lattices of nanoapoferritin nanostructures and these multi functional structures were have characterised.

In the last part of the study; the functionality and peroxidase enzyme kinetics of Janus model bionanostructures have proved by electrochemical approaches. Studies of janus nanostructures were analysed. The effect of enzyme and subsrate concentrations on the activity of these bionanostructures have investigated.

Key word: Apoferritin, Bionanostructure, Ferritin, Janus Nanostructure, Protein Nanoparticles

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca her türlü bilgi birikimi ve desteğini benden esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Rıdvan SAY'a

Deneyisel çalışmalarım esnasında her türlü konuda yardımcı olan, bilgi ve tecrübeleriyle katkıda bulunan Prof. Dr. Arzu ERSÖZ'e ve Ars. Gör. Özlem Biçen ÜNLÜER'e

Elektrokimyasal ölçümlerde yardımlarını esirgemeyen, Dicle Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nden Yard. Doç. Dr. Remziye GÜZEL'e

Çalışmalarım boyunca her zaman yanımda ve bilgilerini paylaşmış olan laboratuvar arkadaşlarıma,

Eğitim hayatım süresince bana maddi ve manevi destek olan aileme

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Şükriye Nihan KARUK

Aralık 2014

İÇİNDEKİLER

<u>ÖZET</u>	i
<u>ABSTRACT</u>	ii
<u>TEŞEKKÜR</u>	iii
<u>İÇİNDEKİLER</u>	iv
<u>ŞEKİLLER DİZİNİ</u>	vii
<u>CİZELGELER DİZİNİ</u>	xiii
<u>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</u>	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. NANOTEKNOLOJİ.....	1
1.1.1. Nanopartiküller, Karakterizasyonları ve Üretim Yöntemleri.....	4
1.1.2. Rutenyum Tabanlı Fotosentitif Amino Asit Monomerleriyle Çapraz Bağlama ve ANADOLUCA Yöntemi	6
1.2. ENZİMLER.....	7
1.2.1. Enzimlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması	9
1.2.2. Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi	11
1.2.3. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler.....	11
1.2.3.1. pH'ın Enzimatik Reaksiyon Hızına Etkisi	11
1.2.3.2. Sıcaklığın Enzimatik Reaksiyon Hızına Etkisi.....	11
1.2.3.3. Substrat Derişiminin Enzimatik Reaksiyon Hızına Etkisi.....	11
1.2.3.4. Enzim Derişimin Enzimatik Reaksiyon Hızına Etkisi	13
1.3. İKİ YÜZLÜ NANOPARTİKÜLLER VE SENTEZ YÖNTEMLERİ.....	14
1.3.1. Kendiliğinden Düzenlenme.....	16
1.3.2. Maskeme	17
1.3.3. Faz Ayrımı.....	17

1.4. FERRİTİN.....	18
1.4. BİYOHAFIZA	20
2. MATERYAL VE METOT	22
2.1. MATERYAL.....	22
2.1.1. Kullanılan Kimyasallar	22
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	22
2.2. METOT	23
2.2.1. N-metakriloil-(L)-tirozin (MATyr) Sentezi	23
2.2.2. Bis(2-2'-bipiridil) (MATyr) ₂ Rutenyum (II) Sentezi	24
2.2.3. Apoferritin Nanopartiküllerinin Sentezi.....	24
2.2.4. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Sentezi	25
2.2.5. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Karakterizasyon Çalışmaları.....	25
2.2.6. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Protein Miktarı Tayini	25
2.2.7. Enzim Kinetiği Çalışmaları.....	26
2.2.7.1. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerinin Tayini.....	26
2.2.7.2. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerine pH'ın Etkisi	26
2.2.7.3. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerine Sıcaklık Etkisi.....	27
2.2.7.4.İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerine Substrat Değişiminin Etkisi.....	27
2.2.7.5.İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerine Enzim Değişiminin Etkisi.....	27
2.2.8. Elektrokimyasal Çalışmalar	27
3. BULGULAR	29
3.1. NANOPARTİKÜLLERİN KARAKTERİZASYONU.....	29
3.1.1. Boyut Analizi	29
3.1.2. Nanopartiküllerde Bradford Methodu ile Protein Miktarı Tayini	30

3.1.3. Kinetik Çalışmalar.....	31
3.1.3.1. pH Etkisi	31
3.1.4.2. Sıcaklık Etkisi.....	36
3.1.4.3. Substrat Değişimi Etkisi.....	40
3.1.4.4. Enzim Değişimi Etkisi	44
3.1.4. Elektrokimyasal Çalışmalar	48
4. YORUM VE SONUÇ	62
5. KAYNAKLAR.....	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Yapıların boyut skalasında gösterim.	1
Şekil 1.2. Nanomalzemelerin sınıflandırması.	2
Şekil 1.3. Nanopartiküllerin karakterizasyon yöntemleri	4
Şekil 1.4 Yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya yaklaşımlarıyla nanopartikül sentez metodları	5
Şekil 1.5. a) Enzimlerin çalışma prensibi, b) Enzim olmadan ve enzim varlığında reaksiyonun aktivasyon enerjisi farkı	9
Şekil 1.6. pH'ın enzimatik reaksiyon hızına etkisi	11
Şekil 1.7. Sıcaklığın enzimatik reaksiyon hızına etkisi	12
Şekil 1.8. a)Michaelis-Menten grafiği, b)Linewear-Burk grafiği.....	13
Şekil 1.9. Enzim derişiminin enzimatik reaksiyon hızına etkisi.....	13
Şekil 1.10. a) Janus partikül, b) Roma Tanrısı Janus.....	14
Şekil 1.11. İki yüzölü nanopartikül şekilleri.....	15
Şekil 1.12. İki yüzölü nanopartikül sentezinde üç başlıca sentez yöntemi şematizesi: a) Maskeleme, b) Faz Ayrımı, c) Kendiliğinden Düzenlenme.....	16
Şekil 1.13. Ferritin ve apoferritin moleküllerinin gösterimi	19
Şekil 2.1. N-metakriloil-(L)-tirozün sentezi	23
Şekil 2.2. Bis(2-2'-bipiridil)(MATyr) ₂ -Rutenyum (II) molekül yapısı	24
Şekil 2.3. a) Nanoapoferritin yapısı, b) İki yüzölü nanopartikül yapısı.....	25
Şekil 3.1. Pt metali içeren nanopartiküllerin boyut analizi.....	29
Şekil 3.2. Cu metali içeren nanopartiküllerin boyut analizi	29
Şekil 3.3. Fe/Mn metallerini içeren nanopartiküllerin boyut analizi	30
Şekil 3.4. Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren nanopartiküllerin boyut analizi	30
Şekil 3.5. İki yüzölü nanopartiküllerdeki protein miktarı tayini için oluşturulan kalibrasyon grafiği	31

Şekil 3.6. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Pt metali içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi.....	32
Şekil 3.7. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Mn içeren metaloprotein nanoyapıların aktivitelerinin pH ile değişimi	32
Şekil 3.8. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Cu metalini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi.....	33
Şekil 3.9. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Fe metalini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi	33
Şekil 3.10. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Mn/Fe metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi	34
Şekil 3.11. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Cu/Pt metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi	34
Şekil 3.12. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi	35
Şekil 3.13. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Pt/Mn/Fe/Cu metallerini içeren nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi	35
Şekil 3.14. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Pt metali içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi.....	36
Şekil 3.15. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Mn metali içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi.....	36
Şekil 3.16. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Cu metalini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi	37
Şekil 3.17. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Fe metalini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi	37
Şekil 3.18. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Mn/Fe metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi	38
Şekil 3.19. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Cu/Pt metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi	38

Şekil 3.20. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi	39
Şekil 3.21. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Pt/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi	39
Şekil 3.22. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 5 tamponu kullanılarak, enzim derişimi 50 ppm olan Pt metali içeren iki yüzlü nanopartiküler ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı	40
Şekil 3.23. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 5 tamponu kullanılarak, enzim derişimi 40 ppm olan Mn metali içeren iki yüzlü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver – Burk grafiğı	40
Şekil 3.24. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 6 tamponu kullanılarak, enzim derişimi 50 ppm olan Cu metali içeren iki yüzlü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı	41
Şekil 3.25. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 9 tamponu kullanılarak, enzim derişimi 70 ppm olan Fe metali içeren iki yüzlü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver – Burk grafiğı	41
Şekil 3.26. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 6 tamponu kullanılarak, enzim derişimi 60 ppm olan Mn/Fe metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı	42
Şekil 3.27. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 4 tamponu kullanılarak, enzim derişimi 80 ppm olan Pt/Cu metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı	42
Şekil 3.28. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 5 tamponu kullanılarak, enzim derişimi 50 ppm olan Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzlü nanopartikülleri ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı	43

Şekil 3.29. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 6 tamponu kullanılarak, enzim derişimi 60 ppm olan Pt/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzölü nanopartikülleri ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı	43
Şekil 3.30. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 5; enzim derişimi 50 ppm olan Pt metali içeren iki yüzölü nanopartiküller)	44
Şekil 3.31. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 5; enzim derişimi 40 ppm olan Mn metali içeren iki yüzölü nanopartiküller)	44
Şekil 3.32. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 6; enzim derişimi 50 ppm olan Cu metali içeren iki yüzölü nanopartiküller)	45
Şekil 3.33. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 9; enzim derişimi 70 ppm olan Fe metali iki yüzölü nanopartiküller)	45
Şekil 3.34. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 6; enzim derişimi 60 ppm olan Mn/Fe metallerini içeren iki yüzölü nanopartiküller)	46
Şekil 3.35. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 4; enzim derişimi 80 ppm olan Pt/Cu metallerini içeren iki yüzölü nanopartiküller)	46
Şekil 3.36. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 5; enzim derişimi 50 ppm olan Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzölü nanopartiküller)	47
Şekil 3.37. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 6; enzim derişimi 60 ppm olan Pt/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzölü nanopartiküller)	47
Şekil 3.38. Nanoapoferritinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogram	48

- Şekil 3.39.** Apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği 1) Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, 2) 120ms’de akım yüklenerek yapılan ölçümler, 3) Belleğin cevap verdiği akımlar 48
- Şekil 3.40.** Ag metalini içeren apoferritin partiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı..... 50
- Şekil 3.41.** Ag metalini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği 1) Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, 2) 120ms’de akım yüklenerek yapılan ölçümler, 3) Belleğin cevap verdiği akımlar 50
- Şekil 3.42.** Cu metalini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı..... 52
- Şekil 3.43.** Cu metalini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği a) Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, b) 120ms’de akım yüklenerek yapılan ölçümler, c) Belleğin cevap verdiği akımlar 52
- Şekil 3.44.** Mn metalini içeren apoferitin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı 54
- Şekil 3.45.** Mn metalini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği, a) Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, b) 120ms’de akım yüklenerek yapılan ölçümler, c) Belleğin cevap verdiği akımlar 54
- Şekil 3.46.** Cu/Ag metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı 56
- Şekil 3.47.** Cu/Ag metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği a) Belleğin periyodik olarak cevap verdiği

akımlar, b) 120ms'de akım yüklenerek yapılan ölçümler, c) Belleğin cevap verdiği akımlar	56
Şekil 3.48. Fe/Mn metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı.....	58
Şekil 3.49. Fe/Mn metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği, a) Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, b) 120ms'de akım yüklenerek yapılan ölçümler, c) Belleğin cevap verdiği akımlar	58
Şekil 3.50. Ag/Fe/Mn/Cu metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı	60
Şekil 3.51. Ag/Fe/Mn/Cu metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği a) Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, b) 120 ms'de akım yüklenerek yapılan ölçümler, c) Belleğin cevap verdiği akımlar	60

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Biyonanoyapıların en yüksek aktivite gösterdikleri pH değerleri, en yüksek aktivite gösterdikleri sıcaklık değerleri, hesaplanan Michaelis-Menten sabitleri ve maksimum reaksiyon hızları.....	62
--	----

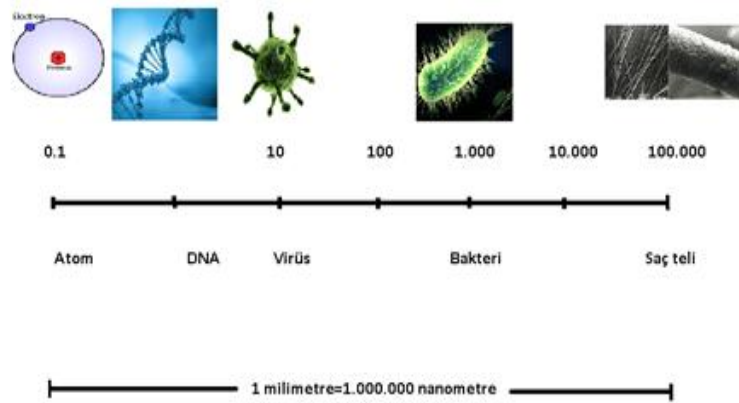
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APS	:	Amonyum persülfat		
CA	:	Kronoamperometri		
CV	:	Döngüsel voltammetri		
EAR	:	Elektrokimyasal aktif biyofilmler		
K_m	:	Michealis sabiti		
MATyr	:	Metakriloil amido tirozin		
OCP	:	Açık devre potansiyeli		
PVA	:	Polivinil alkol		
THF	:	Tetrahidro furan		
TMB	:	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin		
U	:	Ünite aktivite		
V_{mak}	:	Maksimum	reaksiyon	hızı

1. GİRİŞ

1.1. NANOTEKNOLOJİ

Nano kelimesi, herhangi bir birimin milyarda biri demektir. Nano, Yunancada "nanos" kelimesinden gelen "küçük yaşlı adam ve cüce" anlamına gelmektedir. Bir nanometre üç ile beş atom boyutunu kapsamaktadır ve bir insan saç telinin boyutu, bir nanometrenin yaklaşık 100.000 katıdır. **Şekil 1.1**'de nanometre boyutu diğer makro yapılarla karşılaştırılarak gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Yapıların boyut skalasında gösterimi

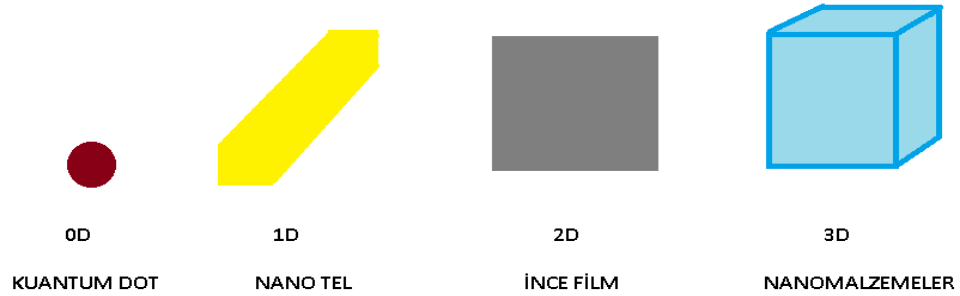
Nanoteknoloji bize atomik ve moleküler seviyede kontrol sağlarken malzemelerin tasarım, üretim, karakterizasyonuna olanak sağlamaktadır. Fizik, kimya, biyoloji, mühendislik gibi birçok alanı kapsayan bu disiplinler arası bilim, nano boyutta araştırma ve geliştirme çalışmalarının tümünü ifade etmektedir. Amaç, 0,1-100 nm aralığında atomların dizilişlerini değiştirerek istenilen özelliklere sahip yeni malzemeler yaratma düşüncesidir.

Nanoboyuta inildiğinde ortaya çıkan özellikler makro boyuttan farklılık göstermektedir. Makroyapıdaki bir malzemenin nanoboyuta inildiğinde

iletkenliği, fiziksel, kimyasal ve optik özellikleri farklılık göstermektedir. Bu durum nanoteknolojiye ilginin artmasına sebep olmuştur. Nanobilim, bu yeni davranışları kuantum kuramı ile anlamamıza yardımcı olmaktadır.

Nanomalzemelerin bazıları doğal yollarla oluşur fakat ilgi çekenleri günümüzde birçok ticari ürün ve proseste kullanılan sentezlenmiş olanlarıdır. Nanomalzemeler leke tutmaz ve kırışmaz tekstil ürünlerinde, kozmetikte, güneş kremlerinde, elektronik gibi birçok ticari alanda kullanılmaktadır. Nanokaplamalar ve nanokompozitler günümüzde pencerelerde, spor malzemelerinde, otomobillerde ve çeşitli alanlarda kullanılmaktadırlar.

Nanomalzemeler **Şekil 1.2.**'deki gibi sıfır, bir, iki ve üç boyutlu olarak sınıflandırılır.



Şekil 1.2. Nanomalzemelerin sınıflandırılması

Nanomalzemeler tek, birleşik, agrege olmuş veya aglomera halde; silindirik, çubuk şeklinde, boşluklu, küresel veya düzensiz şekillerde olabilirler. En çok bilinen nanomalzemeler; nanotüpler, dendirimerler, kuantum dotlar ve fullerenlerdir.

Nanoteknolojinin tarihsel gelişimine bakarsak, 1660'lı yıllarda kilise camlarındaki kırmızı renklendirmenin, kolloidal altın nanopartikülleriyle

sağlandığı görülmektedir. Süreç Michael Faraday'ın 1850'lili yıllarda yaptığı çalışmalarla devam etti. Faraday kolloidal altın nanopartiküllerini sentezledi ve renk etkisi üzerine çalışmalar yaptı (Kuzma & Priest, 2010).

Kaliforniya Enstitüsünden Prof. Richard Feynman 1959'da Amerikan Fizik Cemiyetinde yaptığı "Aşağıda Çok Yer Var" konuşmasında ilk defa nano ölçekte atomların manipüle ederek partiküllerin üretilmesinin olanaklı olduğundan bahsetmiştir. Ayrıca küçük boyutlara inildikçe yerçekiminin önemini yitireceğini, zayıf kuvvetlerin (Wan der Waals) gibi önem kazanacağını belirtmiştir. Feynman nanoteknoloji kelimesini kullanmamış olsa da yıllar sonra nanoteknolojiden bahsettiği anlaşılmıştır.

Feynman'ın yaptığı bu konuşma günümüzde nanoteknoloji modelinin orijini olarak kabul edilmektedir. Feynman'dan sonra bu konuyla ilgilenen isim ise Norio Taniguchi'dir. 1974'de yayınlamış olduğu "Temel Nano-Teknoloji Konseptleri" makalesinde nanoteknoloji kelimesi ilk defa literatüre geçmiştir. Taniguchi, nanoteknolojiyi "atomların ya da moleküllerin işlenmesi birleşmesi, ayrışması ve bozulması" olarak ifade etmiştir. Günümüzde nanoteknoloji tanımı biraz değişerek 100 nm ve altı boyutlarını kapsamaktadır. Diğer önemli isim ise Eric Drexler'dir. İlk defa nanoteknoloji ile ilgili "Moleküler Üretim" adlı kitabı yazmıştır.

Gerd Bining ve Gerhard Rohrer'in 1981 yılında STM'nun (Taramalı Tünelleme Mikroskobu) icadıyla Nobel ödülü almaları, nanoteknoloji adına önemli gelişmedir. 1985'de fulleren benzeri bir yapı olan buckyball, Robert Curl, Harold Kroto ve Richard Smalley tarafından ortaya kondu ve bu çalışmaları, bilim adamlarına Nobel ödülünü getirdi. 1986 'da atomik kuvvet mikroskobunun bulunmasıyla, nanoboyutta ölçümler ve çalışmalar artmaya devam etti. Günümüzde hala genç bir bilim olan nanoteknoloji, devletler ve şirketler arasında hızla yayılmakta, milyon dolarlık yatırımlar yapılmakta ve her geçen gün gelişmesini sürdürmektedir (Melnik & Shagalina, 2000) (Tolochko, 2000), (Drexler, 2004).

Nanoteknolojinin bilimsel ve ekonomik anlamda hızla büyüyen gelişmesinin yanında, insan sağlığı ve çevre için olumsuz durumlar meydana getirmektedir. Çok küçük boyuttaki nanopartiküllerin ve nanotüplerin geniş yüzey alanları sebebiyle toksik kimyasal kirleticiler, partikül yüzeyine bağlanabilmekte ve partiküller toksik maddeleri taşıyabilmektedirler. Bunun yanında reaktif radikaller üretebilmeleri de olasıdır. Nanoyapıdaki maddelerin solunmasında memelilerde ve insanlarda akciğer hastalıklarına neden olmaktadır. Nanopartiküllerin üretimi aşamasında oluşan yan ürünlerin çevreye ne kadar zararlı olduğu tam olarak bilinmemektedir. Bu olaylar doğrultusunda nanopartiküllerin çevre, doğa ve insan sağlığına zararlı etkilerinin incelenmesi için yeni kurallar konulmaya çalışılmaktadır (Şekeroğlu, 2013), (Kuzma & Priest, 2010).

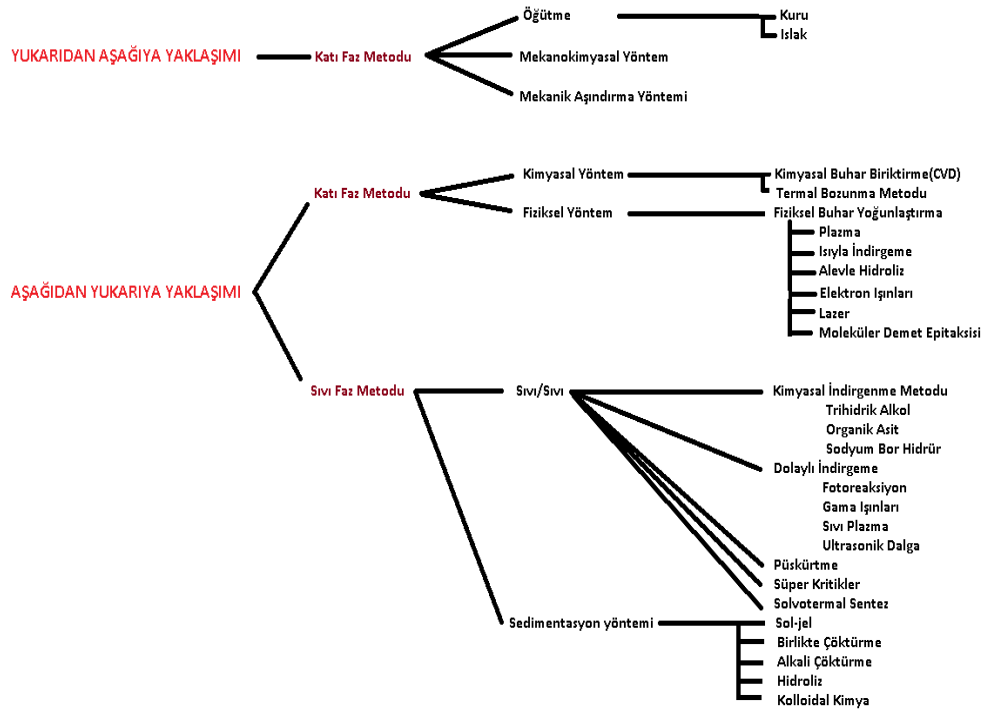
1.1.1. Nanopartiküller, Karakterizasyonları ve Üretim Yöntemleri

100 nm ve altındaki yapılar olarak tanımlanan nanopartiküller, bilinen malzemelerden farklı özelliklere sahiptirler. Elektronik özellikleri (10 nm’ın altındaki partiküllerin kuantum boyut etkileri), geniş yüzey alanları (reaktivite, yüksek enerjili yüzey alanı, adsorpsiyon, yüksek çözünürlük, düşük kaynama sıcaklığı), optik özellikleri gibi çok sayıda üstün özellikleri vardır. Nanopartiküllerin karakterizasyon işlemleri **Şekil 1.3.**’de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Nanopartiküllerin karakterizasyon yöntemleri

Bu olağandışı özelliklere sahip olmaları, birçok cihazın üretiminde ilk adım olarak nanopartiküllerin sentezi olduğu açıkça görülmektedir. Nanomalzemelerin üretiminde kullanılan genel yaklaşımlar aşağıdan yukarıya yaklaşımı, yukarıdan aşağıya yaklaşımı, fonksiyonel yaklaşımlar ve biyobenzeşimsel yaklaşımlardır. Aşağıdan yukarıya yaklaşımında nanopartikül üretimi, atomik yapıdan başlanarak atom veya molekül yapılarının kimyasal reaksiyonlarla büyütülerek partikül oluşturulması esasına dayanmaktadır. Yukarıdan aşağıya yaklaşımında, hacimli malzemelere fiziksel veya kimyasal işlemler uygulanarak, nano boyutta yapıların elde edilmektedir.



Şekil 1.4. Yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya yaklaşımlarıyla nanopartikül sentez metodları

Fonksiyonel yaklaşımlarda, nasıl birleştirildikleri önemsenmeksizin yapılara isteğe bağlı işlev kazandırılmaktadır. Enerji altında istenilen yöne yönlendirilebilme, nanoelektronik aygıtların üretiminde fazlaca kullanılmaktadır.

Biyobenzeşimsel yaklaşımlarda, doğada bulunan biyolojik metodların biyonanoteknolojiye uyarlamalarıdır. Lipitler, virüsler, proteinler gibi biyomoleküller kullanılmaktadır.

1.1.2. Rutenyum Tabanlı Fotosensitif Amino Asit Monomerleriyle Çapraz Bağlama ve ANADOLUCA Yöntemi

Yaşam bilimlerinde ve biyoteknoloji alanında kullanılmak üzere geliştiren ANADOLUCA yöntemi (ANADOLUCA-AmiNoAcid (monomer) Decorated and Light Underpinning Conjugation Approach), rutenyum tabanlı, fotosensitif (ışığa duyarlı), amino asit monomer ve oligomerlerinin sentezleri; fotosensitif proteinlerin konjugasyonu ve çapraz bağlanması işlemlerinde uygulanmak üzere tasarlanmıştır. Farklı hücre tiplerini, dokuları ve diğer hedefleri algılamak için istenen mikro ve nanoyapılara entegre edilebilir. Protokol, bir çok proteinde yer alan sistein, triptofan ve tirozin amino asitlerine rutenyum tabanlı amino asit monomerler tarafından çapraz bağlı konjugasyon işlemleriyle gerçekleştirilmektedir. Yöntemde fotosensitif monomerler, kovalent ve çapraz bağlanma işlemi sebebiyle doğru antikör oryantasyonu için yönlendirme sağlanmakta ve denatürasyon durumu engellenmektedir.

Yöntemde, silika materyallere, süperparamanyetik partiküllere, nanokristallere, karbon nanotüplere, Ag/Au nanopartiküllere ve Au yüzeylerine protein entegrasyonunun yanında proteinimsi polimerik nanopartiküllerin hazırlanmasında ve ilgili yüzeylerle entegrasyon işlemlerinde de kullanılabilir.

ANADOLUCA yöntemi, ayrılabilir katı faz sistemleri, teranostikler (eş zamanlı tanı ve tedavi olanağı), nanoprotein taşıyıcı yapılar, reseptör hedefli nanokargolar, biyosensörler, biyokataliz uygulamaları, yönetilebilir görüntüleme teknolojileri gibi uygulama alanlarında kullanılabilen yeni nesil nanobiyokonjugantların oluşturulduğu bir yöntemdir.

Bu yöntem ile multifonksiyonel, biyoyumlu, stabil ve spesifik mikro ve nano biyokonjugasyon işlemlerinde kullanıldığı gibi kataliz ve tayin işlemlerinde

de kullanılabilir. Sentezlenmiş olan nanobiyokonjugantlarda, proteinlerin fonksiyonlarında ve konformasyonlarında değişim olmaz. Yöntem, pH ve sıcaklıktan bağımsız bir uygulamadır (Say, et al., 2011).

Say ve arkadaşlarının Process Chemistry dergisinde yayınlanan çalışmasında lipaz enzimi taşıyıcı nanoprotein partiküller, rutenyum tabanlı amino asit monomerleriyle fotosensitif çapraz bağlama ve ANADOLUCA yöntemiyle sentezlenmiştir. Nanopartiküllerin karakterizasyonları, zeta boyut analizi ve geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ile belirlenerek ortalama partikül boyutu yaklaşık 100 nm olarak saptanmıştır. Çalışmada, serbest lipaz ve sentezlenen lipaz nanopartiküllerin aktiviteleri p-nitrofenilpalmitat (p-NPP) hidrolizi sonucunda absorpsiyon artışının spektrofotometrik olarak 405 nm'de izlenerek, hidrolitik aktivite üzerine pH, sıcaklık gibi parametrelerin etkisi incelenmiştir. Çalışmanın son aşamasında lipaz nanopartiküllerin kararlılığını ve tekrarlanabilirliğini ölçmek için, aynı nanopartiküller arka arkaya 10 kez kullanılmıştır. Sterilizasyon için her döngü sonrasında nanopartiküller önce etanol ile daha sonra su ile yıkama işlemi yapılmıştır. 10 döngünün ardından lipaz nanopartiküllerin enzimatik aktivitesinde kayda değer bir azalma gözlenmemiştir (Say, et al., 2011).

1.2. ENZİMLER

Hayat için iki önemli durum vardır. Birincisi canlının kendini kopya etmesi ikincisi ise seçici olarak kimyasal reaksiyonların kataliz edilmesidir. Şeker, yiyecek ve içeceklere tat verici olarak kullanılmaktadır. Şekerin oksijenli ortamda H_2O ve CO_2 e çevrilmesi ekzergonik bir işlemdir. Oluşan enerjiyi düşünmek, hareket etmek, görmek ve tatmak için kullanılmaktadır. Ancak bir paket şeker, H_2O ve CO_2 ye dönüşmeden rafta yıllarca kalabilmektedir. Bu kimyasal reaksiyon, termodinamik olarak oldukça uygun olmasına rağmen çok yavaştır. Fark kataliz olayıdır. Kataliz olmadığında sakkaroz oksidasyonu uygun zaman periyodunda meydana gelmemektedir. Katalitik güce sahip olan yapılar ise enzimlerdir.

İnsan hücresinde yaklaşık 40.000 farklı enzim bulunmaktadır. Hepsinin kontrolü farklı kimyasal reaksiyonlardır. Enzimler, reaksiyonların hızını 10^6 - 10^{12} aralığında artırmaktadırlar.

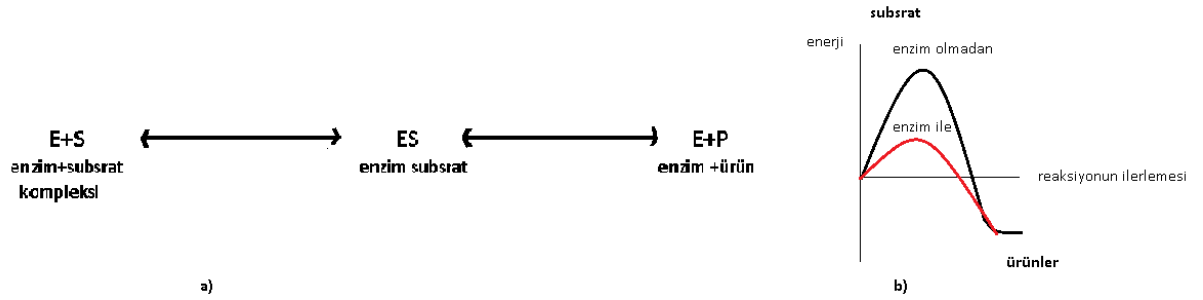
Biyolojik katalizin farkedilmesi, 1700'lu yıllarda mide salgısının eti parçaladığının anlaşılmasıyla başlamıştır. 1800'lü yıllarda tükürük ve bitki özlerinde, nişastanın parçalanması işlemleriyle devam ettirilmiştir. 1850'de Pasteur, mayaların şekeri alkol ile fermente ettiğini bulduktan sonra Frederick W. Kühne ilk defa enzim terimini kullanmıştır. 1926'da üreaz enzimini izole etmeyi ve kristal yapıda elde etmeyi başaran James Sumner, bütün enzimlerin protein olduklarını ileri sürdü. Ancak bu görüş tripsin, pepsin ve diğer sindirim enzimleri keşfedilmesiyle kabul görmüştür. Haldane'nin enzimler ile substrat arasındaki reaksiyonun, zayıf bağları katalize ettiğini iddia etmesiyle enzimatik kataliz fikri oluşmuştur. Çalışmalar sonraki yıllarda yoğunluk kazanmıştır. Bu durum binlerce enzimin saflaştırılmasını ve kimyasal mekanizmaları hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamıştır.

Katalitik RNA dışında bütün enzimler protein yapısındadırlar. Enzimlerin katalitik aktiviteleri konformasyonlarına bağlıdır. Enzim yapılarının primer, sekonder, tersiyer veya kuarter yapılarda olmaları, katalitik aktiviteleri için önemlidir. Yapılar denatüre edilirse yahut üniteler halinde ayrılması durumunda enzimlerin katalitik aktiviteleri kaybolmaktadır.

Enzimlerde diğer proteinler gibi moleköl ağırlıkları 12.000 ile 1.000.000 arasındadır. Canlı hücreler tarafından sentezlenmeleri, enzimlerin karakteristiğinin spesifik olduğu anlamına gelmektedir. Bazıları sadece protein yapısındayken, bazıları ise protein yapısına ek olarak bir veya birden fazla iyon taşımaktadır. Örneğin pepsin ve tripsin sadece protein yapısından oluşmuşken, karbonik anhidraz yapısı Zn (II) iyonu taşımaktadır. Enzimlerin protein kısmına apoenzim denir. Bir veya daha fazla inorganik iyon içeren yapılara kofaktör, metallorganik moleküllere veya kompleks yapıların enzimin protein kısmına sıkıca bağlı ve ayrılmıyorsa prostetik grup, eğer ayrılabilir ise koenzim denilmektedir. Koenzim ile apoenzim yapısının bütüne haloenzim denir.

Enzimlerin etki ettikleri maddelere substrat, enzimlerin substrat ile reaksiyon verdikleri bölgeye aktif bölge denir. Reaksiyonun gerçekleşip ürünün oluşabilmesi, yani bir bağın yıkılıp diğerinin oluşması için gerekli olan enerjiye aktivasyon enerjisi denmektedir.

Genel olarak **Şekil 1.5**'de reaksiyon mekanizması ve enzim varlığında gerekli olan aktivasyon enerjisi gösterilmektedir.



Şekil 1.5. a) Enzimlerin çalışma prensibi, b) Enzim olmadan ve enzim varlığında reaksiyonun aktivasyon enerjisi farkı

Enzimler hücre içinde sentezlenmekte ve birçoğu hücre için kullanılmaktadır. Bunlar introselüler enzimlerdir. Sadece sindirim sisteminde kullanılan pepsin, kimotripsin ve tripsin gibi enzimler hücre içinde sentezlenip sonradan dışarı salınmaktadırlar. Bunlar ekstraselüler enzimlerdir.

1.2.1. Enzimlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması

Enzimlerin isimlendirilmesi, katalize ettikleri reaksiyona göre yapılmaktadır. Genel olarak etki edilen substratta “az” eki getirilerek yapılmaktadır. Örneğin laktozun iki parçaya ayrılması sırasında katalizi sağlayan enzim “laktaz”dır. “Litik” eki getirilerek de isimlendirilirler. Proteinleri parçalayan enzime hem “proteaz” hem de “proteolitik enzimler” denmektedir.

Enzimlerin altı sınıfta toplanmaktadır.

Oksidoredüktazlar: Biyolojik oksidasyonla ilgili enzimlerdir. Redoks reaksiyonlarını katalizlerler. Hidrojen veya elektron alıcısıdırılar. Oksidoredüktazlar, dehidrojenazlar (redüktazlar) ve oksidazlardır. Dehidrojenazlar, H alıcısı varken substrattan H'i alırlar. Oksidazlar H alıcısı olarak oksijen yapısı içerir.

Transferazlar: Verici yapı üzerinde bulunan belirli bir grubun diğer bileşiğe transferini katalize eder. Kendi içinde aldehit veya ketonları transfer edenler, aşıll grubunu transfer edenler, şeker gruplarını transfer edenler, tek karbonlu grupları transfer edenler ve diğer transferazlar olarak sınıflandırılabilirler.

Hidrolazlar: Çeşitli bağların, substrata su ekleyerek hidrolize olmalarına sağlarlar. Basit esterazlar, lipazlar, fosfatazlar, kolinesterazlar, peptid hidrolazlar, nükleazlar, karbonhidratları etkileyen enzimler (amilaz, selüloz, inüloz ve glikozidaz) ve amino grup içeren karbon azot bağını koparabilen enzimlerdir (üreaz, asparajinaz glutaminaz, nüklein deaminaz, arjinaz).

Liyazlar: C-C, C-O ve C-N arası bağların kırılmasını veya atomlar arası çift bağların oluşmasını sağlarlar. Bunlar dekarboksilazlar, karbonik anhidrazlar, aspartat amonyak liyazlar ve sistein desülfhidrazlardır.

İzomerazlar: İzomerleşme reaksiyonlarını yani geometrik veya yapısal değişiklikleri katalize eden enzimlerdir. Rasemazlar ve epimerazlar, cis-trans izomerazlar, intramoleküler oksidoredüktazlar ve intra moleküler transferazlardır.

Ligazlar (Sentetazlar): C-O, C-S, C-N ve C-C arasında bağ kurmayı sağlayan enzimlerdir Genel olarak ATP'nin parçalanmasıyla oluşan AMP ve PP ile birlikte açığa çıkan enerjiyi kullanarak, iki molekülün birbirine bağlanmasını katalize etmektedirler.

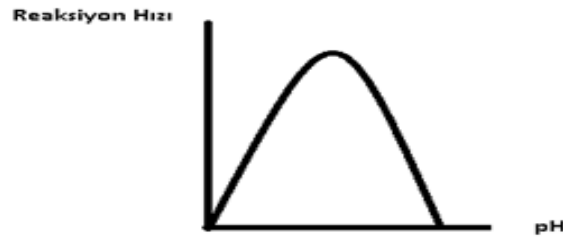
1.2.2. Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Enzimlerin konsantrasyonları çok düşük olduğunda, ölçümler zorlaşmaktadır. Enzim aktivitelerini ölçerken, enzim ünitesi ve spesifik aktivite kullanılmaktadır. Enzim ünitesi, optimum koşullarda bir mikromol substratı bir dakikada ürüne çeviren enzim miktarıdır. Spesifik aktivite ise bir miligram protein başına düşen enzim ünitesi sayısıdır. Aktivite ölçümlerinde enzim konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak meydana gelen ürün miktarı ölçülerek hesaplanmaktadır. Enzim aktivatörleri ise enzim etkisini artıran maddelerdir. Bunlar; inorganik iyon veya organik gruplar olabilirler. Tükürükte bulunan amilaz enzimini klor iyonu aktive etmektedir. Enzimle katalize edilen reaksiyonların hızlarını enzim derişimi, substrat derişimi, sıcaklık, pH, zaman, ışık vs. gibi fiziksel etkenlerin etkenler değiştirmektedir.

1.2.3. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler

1.2.3.1. pH'ın Enzimatik Reaksiyon Hızına Etkisi

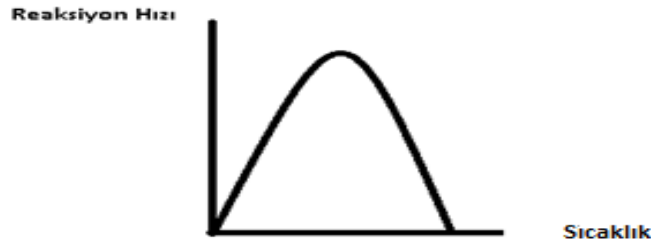
Enzimler optimum pH değerlerinde en yüksek aktiviteyi gösterirler. pH'nın enzim aktivitesini etkileme şekillerine göre değerlendirilirse; enzimin konformasyonel değişimine, denatürasyonuna, enzim substrat yapısındaki elektriksel yüküne etki edebileceği söylenebilir (Altınışık, 1999).



Şekil 1.6. pH'ın enzimatik reaksiyon hızına etkisi

1.2.3.2. Sıcaklığın Enzimatik Reaksiyon Hızına Etkisi

Reaksiyon hızı belirli bir sıcaklığa kadar sıcaklık artışıyla paralellik göstermektedir. Sıcaklıktaki her 1°C'lik artış %10 daha yüksek enzim aktivitesine sebep olmaktadır. Ancak belirli bir sıcaklık değerinin üzerine çıkıldığında enzimler denatüre olur, konformasyonları değişir veya oluşabilecek farklı durumlardan ötürü enzimatik reaksiyon hızları yavaşlar.



Şekil 1.7. Sıcaklığın enzimatik reaksiyon hızına etkisi

1.2.3.3. Substrat Derişiminin Enzimatik Reaksiyon Hızına Etkisi

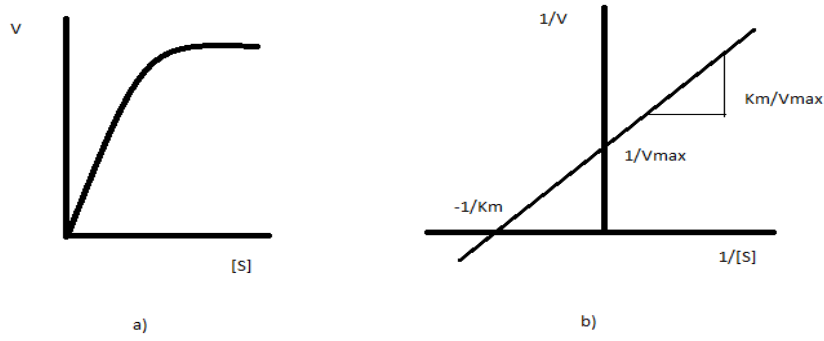
Reaksiyon belirli bir hıza gelinceye kadar substrat konsantrasyonu ile paralel şekilde artmaktadır. Belirli hıza ulaşıncaya kadar, substrat konsantrasyonu artsa bile reaksiyon hızı sabit kalmaktadır. Enzimlerde tepkime hızı Michaelis-Menten eşitliği ile verilmektedir.

$$V = \frac{V_{mak} \times [S]}{K_M + [S]} \quad \text{Michaelis-Menten eşitliği} \quad (1.1)$$

Denklem 1.1'deki Michaelis-Menten eşitliğinden yararlanılarak **(1.2)**'deki Lineweaver-Burk denklemi elde edilmektedir.

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{mak}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{mak}} \quad \text{Lineweaver-Burk eşitliği} \quad (1.2)$$

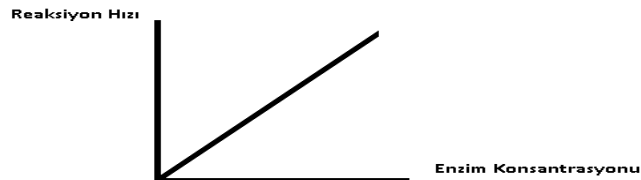
V = başlangıç hızı, V_{mak} = maksimum hız, K_m = Michaelis sabiti, S = substrat derişimini belirtmektedir. $1/V$ ile $1/[S]$ arasında çizilen grafikten elde edilen doğrunun eğim ve kesim noktasından V_{mak} ve K_m değerleri hesaplanmaktadır.



Şekil 1.8. a) Michaelis-Menten grafiği, b) Lineweaver-Burk grafiği

1.2.3.4. Enzim Derişiminin Reaksiyonların Hızına Etkisi

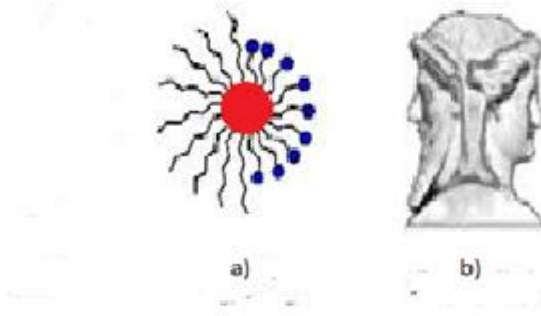
Reaksiyonun hızı, enzim konsantrasyonu ile paralel olarak değişmektedir. Enzim miktarı arttıkça reaksiyon hızlanmaktadır, azaldıkça yavaşlamaktadır.



Şekil 1.9. Enzim derişiminin enzimatik reaksiyon hızına etkisi

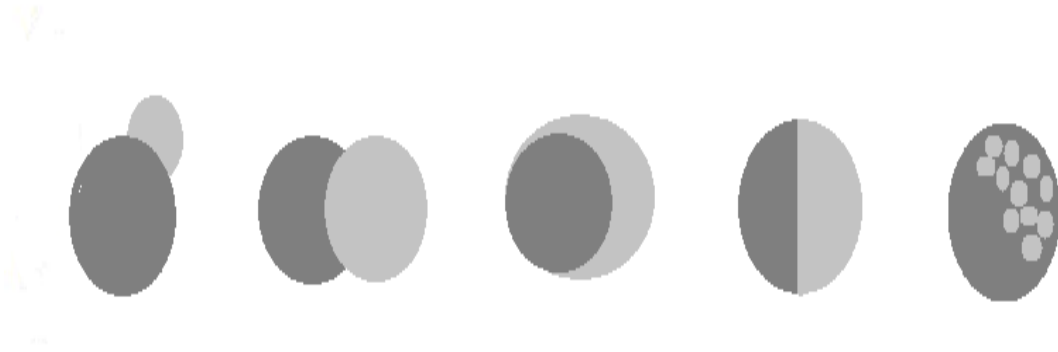
1.3. İKİ YÜZLÜ NANOPARTİKÜLLER VE SENTEZ YÖNTEMLERİ

Pagan kültürü perspektifinde Roma tanrısı olarak bilinen Janus'un birbiri tersine duran bir başta iki yüz ifadesi, iki yarım küresinde farklı kimyasal özelliğe sahip olan janus partiküllerine ismini vermiştir.



Şekil 1.10. a) Janus partikül, b) Roma Tanrısı Janus

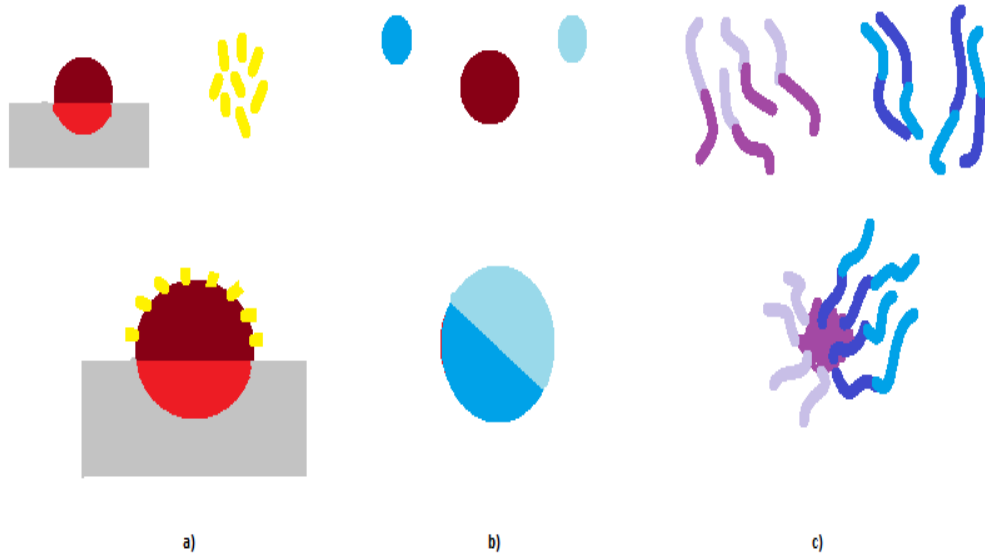
İki yüzlü nanopartiküllerde farklı özellikleri bir arada bulunduran yeni yapılar elde edilmiştir. Bir yarım küresi hidrofobik özellik gösterip diğer yarım küresi hidrofilik özellik gösteren nanopartiküller, bir yüzü apolar diğer yüzü polar özellikli nanopartiküller, farklı optik ve magnetik özelliklere sahip kombine nanopartiküller gibi. İki yüzlü nanopartiküller küme formunda şekil ve boyut kontrolüne, benzersiz yüzey özelliklerine sahiptirler.



Şekil 1.11. İki yüzlü nanopartikül şekilleri

Farklı üretim stratejileriyle üretilmiş üç çeşit iki yüzlü nanopartikül bulunmaktadır. Birinci sentez yöntemi kendiliğinden düzenlenmedir. Blok kopolimerler ve yarışmalı adsorpsiyon yapan ligandlarla sentezlenen nanopartiküller, kendiliğinden düzenlenme yöntemiyle sentezlenebilmektedirler. En çok bilinen örnek iki yüzlü polimerik misellerdir (Erhardt, Boker, Zettl, Kaya, & Pyckhout-Hintzen, 2001). İkinci sentez yöntemi maskeleme ve fonksiyonlandırma basamaklarından oluşmaktadır. Maskeleme işlemi, nanopartikülün bir yüzünün reaktiflerden etkilenmesini engellemektedir. Fonksiyonlandırma basamağında ise maskelenmeyen diğer yüzde kimyasal reaksiyonlar, polimerizasyon işlemleri gerçekleştirilmektedir (Pradhan, Xu, & Chen, 2007). Üçüncü sentez yönteminde nanopartiküller; inorganik yapı içinde polimer matriks dışarıda kalarak, iki farklı polimerin faz ayrışmasıyla ve iki inorganik bileşiğin faz ayrımıyla sentezlenmektedirler (Gu, Yang, Gao, Chang, & Xu, 2005).

Şekil 1.12'de iki yüzlü nanopartiküllerin üretim yöntemleri şematize edilmiştir.



Şekil 1.12. İki yüzöl nanotartiköl sentezinde kullanılan üç başlıca yöntem: **a)** Maskeleme, **b)** Faz Ayrımı, **c)** Kendiliğinden Düzenlenme

1.3.1. Kendiliğinden Düzenlenme

Kendiliğinden düzenlenme yöntemi kullanılarak, blok kopolimerler, birbirinden farklı ligandların yüzeye yarışmalı adsorpsiyonuyla sentezlenen nanotartiköller ve core-shell nanotartiköller sentezlenebilmektedir. Yöntem, blok kopolimerlerin sentezinde kullanılan radikal polimerizasyon methodu ile iyi düzenlenmiş ve dar aralıkta moleköl ağırlığa sahip blok kopolimer elde etmemizi sağlamaktadır. Blok kopolimer bazlı iki yüzöl nanotartiköllerin dizaynı yapılırken; polimer karışımının termodinamiğı, sıcaklığı, pH, polielektrolit, iyonik gücü gibi parametrelerin iyi bilinmesi gerekmektedir (Lattuadaa & Hattonb, 2011).

Proses film ekstrüzyon yöntemiyle başlatılıp ortada bulunan blokların çapraz bağlanmalarının ardından çözölme ve sonikasyon işlemi ile son bulmaktadır. Ter-polimerlerin yapılarına ve moleköl ağırlıklarına bağılı olarak film ekstrüzyonlarında matrikslerinin farklı morfolojilerde olup çözölme işlemine bağılı olarak; küresel, silindirik veya şekilsiz olabilirler (Walther & Muller, 2008).

Farklı ligandların bulunduğu çözeltilerin, nanopartiküllerin yüzeylerine yarışmalı adsorpsiyonuyla iki yüzlü nanopartiküller elde edilmektedir. Bu yöntemle sentezlenen nanopartiküllerde amaç, yapıya bir veya daha fazla farklı fiziksel ve kimyasal özellik kazandırmaktır. Altın nanokristali bu sentez için kullanılan geleneksel bir modeldir.

1.3.2. Maskeleme

Maskeleme yöntemiyle iki yüzlü nanopartikül sentezinde, birçok farklı yöntem kullanılmaktadır. Asimetrik fonksiyonlandırma işlemiyle oluşan nanopartikülün, bir yarıküresi korunurken diğer yarı küresinde kimyasal reaksiyonlarla modifikasyon işlemi gerçekleştirilir. Maskeleme tekniği, iki yüzlü nanopartikül sentezinden kullanılan diğer tüm yöntemlere göre daha esnektir. Bunun sebebi, neredeyse her tip materyal kullanımına izin vermeksi ve çok farklı fonksiyonel grupların nanopartikül yüzeyine modifiyesine olanak sağlamasındandır (Lattuadaa & Hattonb, 2011). İki ana maskeleme yöntemi vardır. Buhar biriktirme yöntemi ve nanopartiküllerin iki faz arasında asılı kalma yöntemidir (Shan, et al., 2010).

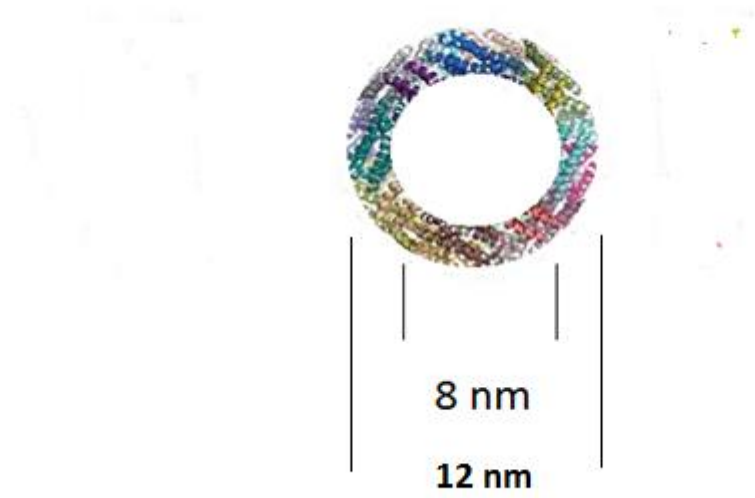
1.3.3. Faz Ayrımı

Faz ayrımı yönteminde iki veya daha fazla birbirlerinden farklı özelliğe sahip maddelerin, tek partikül içinde fazlara ayrışması işlemidir. Uygulamalarda anorganik malzemeler, nanokristaller, polimerik ve polimerik-hibrit malzemeler kullanılabilmektedir. İnorganik heterodimerler, iki farklı özelliğe sahip inorganik malzemelerin kombinesiyle oluşmaktadır. Elektronik uygulamalarda, katalitik uygulamalarda, tanı işlemleri gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadırlar. Birbiriyle karışmayan iki farklı polimer, elektrodinamik püskürtme metodunu kullanılarak iki yüzlü nanopartiküller sentezlenmektedirler. Polimer-inorganik heterodimerlerin sentezlerinde, çekirdek kabuk nanopartiküllerin faz ayrışmasına zorlanması ve emülsiyon polimerizasyonu ile heterofaz polimerizasyonu proseslerinden oluşmaktadır.

1.4. FERRİTİN

Ferritin ismi Latince “ferrum” kökünden gelmektedir. Molekül iki kısımdan oluşmaktadır. Demir atomlarını içeren demir çekirdek ve apoferritin kılıf. Ferritin molekülü apoferritin yapısına %20-23 oranında ferrik (Fe^{+3}) atomu bağlanarak oluşmuş demir taşıyıcı globüler bir proteindir. Ferik demir atomunun fiziksel pH’da çözünürlüğü düşüktür (10^{-18}M). Bu durum poliçekirdek hidrolizine sebep olmaktadır. 10 nm’den küçük partiküller agrege olup, birikirler. Apoferritin kılıf 4500 ferrik atomunu enkapsüle edebilmektedir. Ancak 3000 atomdan fazlası nadir olarak görülmektedir. Apoferritin protein kılıfı, molekül ağırlığı 18000 olan 24 eş alt birimden meydana gelmektedir. Protein kılıfın yaklaşık 12 nm dış çapı 8 nm iç çapı bulunmaktadır. Ferritin demir çekirdek yapısı, ferik hidroksit fosfattan meydana gelmiştir $(\text{FeOOH})_8\text{FeOPO}_3\text{H}_2$. Demiri depolama ve işlevi olmayan demiri toksik olmayan yapıda tutma, ferritin molekülünün başlıca görevleridir. Serbest halde bulunan demir atomlarının toksisitesi, dioksijen aktivasyonunu katalizleyerek daha çok oksidatif radikalinin oluşmasını sağlamaktadır. Demir yapısı ferritin içindeyken daha inert haldedir. Apoferritin yapısı ayrıca demirden başka birçok elementle de bağ yapabilmektedir (Ichiro, Kenji, & Shinya, 2010) (Macara, Hoy, & Harrison, 1973), (Michela, Hoseinb, Hausnerc, & Debnathd, 2010), (Sennuga, Marwijk, & Whiteley, 2012), (Fan, et al., 2011).

Apoferritin; dış yüzeyine, iç yüzeyine ve alt birimlerine fiksasyonlandırma işlemleri yapılmaktadır. Bu işlemler apoferritin molekülüne farklı özellikler kazandırmaktadır.



Şekil 1.13. Ferritin ve apoferritin molekülleri gösterimi

Biyomimetik prosesler kullanılarak birçok inorganik yapı, apoferritin kılıf içinde hapsedilebilmektedir. $\text{Ni}(\text{OH})_3$ (Okuda, Iwahori, Yamashita, & Yoshimura, 2003), $\text{Co}(\text{O})\text{OH}$ (Douglas & Stark, 2000), Ag ve Au (Sennuga, Marwijk, & Whiteley, 2012), Pt (Fan, et al., 2011).

Biyomedikal uygulamalarda spesifik hücre hedefleme özelliği kazandırılan apoferritin yapısı, görüntüleme ve terapötik ajan olarak kullanılmaktadır (Harrison & Arosio, 1996), (Flenniken, et al., 2006).

Apoferritin, doğada gerçekleşen bazı katalitik reaksiyonları gerçekleştirmektedir. Paladyum metalini içeren protein yapısının olefinin hidrojenasyonunu katalizlemesi örnek olarak verilebilir (Ueno, et al., 2004).

Bu çalışmada; iki yüzlü nanoyapıların sentezi fotosensitif bir monomer eşliğinde, apoferritin biyomonomerinin kopolimerik bir biyonanoyapıya kendiliğinden düzenlenmesi yoluyla hedeflenmiştir.

1.5. BİYOHAFIZA

Biyoteknoloji, nanoteknoloji ve elektrik mühendisliğini ilgilendiren yeni nesil elektronik aygıtlar olan çipler ve sensörler yaygın olarak geliştirilmektedir. Bu çalışmalar sonucunda yeni bir bilim olan moleküler elektronik ortaya çıkmıştır.

Doğada elektron transferi fenomeni (fotoelektrik dönüşüm ve fotosentetik dönüşüm sistemlerinde elektron transferi gibi), doğal ve yapay sistemlerde enerji ve bilgi kontrolünü sağlayan en elverişli mekanizmalardan biridir. Özellikle proteinlerdeki ve enzimlerdeki ardışık redoks reaksiyonları, bilgi transferi ve enerji depolamayı sağlamaktadır. Protein ve enzimlerin redoks reaksiyonları günümüzde iki ana başlık altında toplanmaktadır. İlki alternatif enerji ikincisi ise gelecek nesil elektronik cihazların yapılmasında enerji dönüşümünü verimli şekilde artırmayı ve mimik biyomekanizmalarda bilgi kontrolünü amaçlamaktadır.

Enzimatik redoks reaksiyonlarında; substratlar, enzimler kullanılarak indirgenirler. Enzimlerin bu elektrokimyasal davranışları biyolojik redoks reaksiyonlarından biyosensörlere, biyoelektronik ve biyoyakıt hücrelerine kadar geniş uygulama alanına sahip olmasına neden olmaktadır. Özellikle proteinlerin redoks fonksiyonları, moleküler aygıtlarda (biyosensörler ve biyohafızalar gibi) kullanılabilmelerine olanak sağlamaktadır.

Bakterilere dayalı biyobilgisayar sistemleri, biyoelektrokimyasal sistemlerin uygulamaları olarak yeni yeni ortaya çıkmaktadır. Bu sistemlerde elektrokimyasal olarak aktif bakterilerden, elektriksel akımlar üretilir. Elektriksel akımlar, EAB'lerin (elektrokimyasal aktif biyofilmler) inşasında ve extraselüler elektron transferine sebep olmaktadır.

Silikon bazlı hafızaların, fiziksel ve teknik olarak limitleri sebebiyle biyomateryal kombineli biyohafızalara olan ilgi son zamanlarda artmıştır. Metaloproteinlerin sahip oldukları redoks özellikleri ve elektron transfer mekanizmaları, biyohafıza aygıt sistemlerinde kullanılmalarını sağlayan başlıca biyomoleküller olmalarını neden olmuştur. Metaloprotein bazlı biyohafızalarda temel prensip, dışardan akım uygulandığında metaloproteinler elektriksel olarak iki duruma ayrılır. Oksidasyon potansiyeli uygulandığında pozitif yük yakalanır.

Bilginin ilgili fonksiyonu depolama yani yazmadır. Sisteme OCP (açık devre potansiyeli) uygulandığında proteinden yakalanan yk serbest bırakılır. Oksidasyon prosesinde yk depolanması indirgenme potansiyeli uygulamalarını ntrallemektedir ve buda silme prosesini temsil etmektedir (Junhong, Taek, Soo-Min, Hyunhee, & Jeong-Woo, 2010), (Ajay, Taek, Junhong, & Jeong-Woo, 2013).

2. MATERİYAL VE METOT

2.1. MATERİYAL

2.1.1. Kullanılan Kimyasallar

Nanoenzim sentezi için; Apoferritin, K_2PtCl_4 , $CuSO_4$, $MnSO_4$, $FeSO_4$, $AgNO_3$ çözeltileri fotosensitif monomer (MATyr-Ru(bipyridine)₂-MATyr), saf su ve azot gazı kullanılmıştır.

Tampon çözeltiler için; tartarik asit (pH: 3), asetik asit (pH: 4-5), potasyum fosfat mono bazik ve potasyum fosfat di bazik (pH: 6-7-8), glisin (pH: 9-10), saf su, sodyum hidroksit ve hidroklorik asit kullanılmıştır.

Substratların hazırlanması için; 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin, hidrojen peroksit ve saf su kullanılmıştır.

Protein tayini için kullanılan yöntemde bovin serum albümin (BSA) kullanılmıştır.

Elektrokimyasal ölçümlerde, camı karbon (GC) çalışma elektrotları BAS MF-2012 marka ve modeldir. Buehler P-4000 zımpara kağıdı, asetonitril-izopropil alkol (1:1) karışımı, aktif karbon ve grafen çalışmalarda kullanılmıştır.

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

İki yüzlü nanopartiküllerin sentezinde ve çözeltilerin karıştırılmasında JEIO TECH MS-52M manyetik karıştırıcı, nanoyapıları bulundukları çözeltilerden ayırmak için MPW-251 santrifüj, pH ölçümleri için Hanna Instruments HI 2211 pH metre, kinetik ölçümler için BioTek Synergy H1 mikro plaka okuyucu ve GEN5 v2.00 yazılımı kullanılmıştır.

Cam malzemeler (beher, balon joje v.b.), 96 kuyulu polistiren mikro plaka, mikro pipet ve pipet uçları gibi malzemeler çalışmalarda kullanılmıştır.

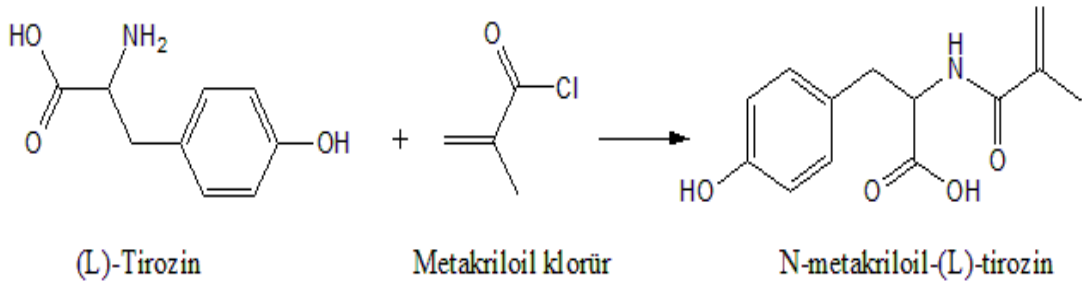
Nano partiküllerin karakterizasyon işlemlerinde, Malvern Instruments Nano ZS zetasizer kullanılmıştır.

Döngüsel voltammetri (CV) ve kronoamperometri (CA) elektroanalitik uygulama çalışmalarında üç elektrot sistemli C3 standına sahip Gamry Referans 300 elektrokimyasal analizör kullanılmıştır.

2.2. METOT

2.2.1. N-metakriloil-(L)-tirozin (MATyr) Sentezi

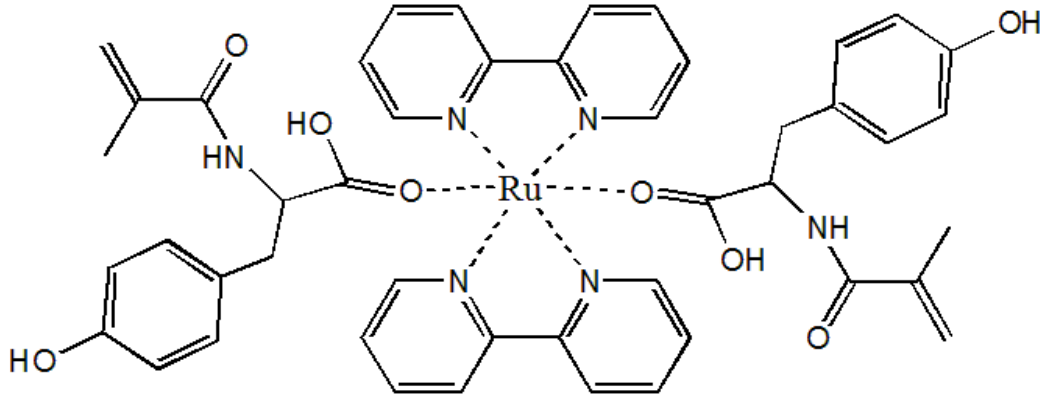
3-(4-hidroksifenil)-2-[(2-metakriloil) amino] propanoik asit (metakriloil tirozin, (MATyr)) sentezinde kullanılan yöntemde, 0.5 g L-tirozin metilester ve 0.2 g hidrokinon, 100 mL diklorometan çözücüsünde çözülmüştür. Çözelti 0°C'e kadar soğutulmuş ve 12.7 g trietilamin çözelti içerisine eklenmiştir. Daha sonra çözelti üzerine 5 mL metakriloil klorür yavaşça ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı ile azot atmosferi altında oda sıcaklığında 2 saat karıştırılmıştır. Hidrokinon ve reaksiyona girmeden ortamda kalan metakriloilin fazlasını çözeltiden ayırmak için %10'luk NaOH çözeltisiyle ekstrakte işlemi yapılmıştır. Su fazı, buharlaştırıcı kullanılarak çözeltiden ayrılmış ve kalan kısmın (MATyr) saflaştırma işlemi eter-sikloheksan karışımıyla kristallendirme işlemi ile yapılmıştır.



Şekil 2.1. N-metakriloil-(L)-tirozin sentezi

2.2.2. Bis(2-2'-bipiridil) (MATyr)₂ Rutenyum (II) Sentezi

Işığa duyarlı bis(2-2'-bipiridil)MATyr-MATyr-rutenyum(II) aminoasit-monomeri sentezinde ilk olarak 1 g diklorobis(2-2'-bipiridil) rutenyum(II) ($\text{RuCl}_2(\text{bipy})_2$) saf su içinde çözülmüş ve 0°C'e kadar soğutulmuştur. Ardından trietilamin ve 1 g MATyr sulu çözeltisi damla damla $\text{RuCl}_2(\text{bipy})_2$ çözeltisine ilave edilmiştir. Çözelti oda sıcaklığında 30 dakika boyunca karıştırma işlemi ile devam etmiştir. Karışım 80°C'da 24 saat boyunca reflaks edilmiştir. Oluşan kahverengi renkteki kompleks yapısı süzülüş ve eterle yıkanmasının ardından vakum altında kurutma işlemi yapılmıştır.



Şekil 2.2. Bis (2-2'-bipiridil) MATyr-MATyr-rutenyum (II) sentezi

2.2.3. Apoferritin Nanopartiküllerinin Sentezi

Apoferritin nanopartiküller ANADOLUCA yöntemi ve mikroemülsiyon polimerizasyon tekniğine göre sentezlenmiştir. Mikroemülsiyon sistemi, 0,5 g poli(vinilalkol) ün (PVA) 45 mL distile su içerisinde dispers edilmesiyle hazırlanmıştır. Diğer bir tarafta 1000 ppm 1 mL apoferritin çözeltisine ışığa duyarlı rutenyum merkezli MATyr-Ru(bpy)₂-MATyr kompleksinden 50 µL ilave edilmiş ve oksijen ortamında 1 saat karıştırılmıştır. Bu karışımı disper edilmiş PVA çözeltisinden 10 mL eklemiştir. Son olarak 45 mL distile su içerisinde 0,02 g APS nin çözülmesiyle hazırlanan polimerizasyon başlatıcı çözeltisinden karışıma 2 mL eklenmiş ve karışım azot atmosferi altında, oda sıcaklığı ve gün ışığında 48 saat karıştırılmıştır. Apoferritin nanopartikülleri reaksiyon ortamından

14000 rpm ve 10 dakika santrifüjlenerek ayrılmıştır ve reaksiyona girmeyen maddeleri uzaklaştırmak için distile suyla yıkanmıştır.

2.2.4. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Sentezi

Sentezlenen nanoapoferritin yapılarıyla Pt, Fe, Mn, Cu, Pt/Cu, Mn/Fe, Pt/Cu/Mn/Fe ve Ag/Cu/Mn/Fe metallerinden 1.000'er ppm lik derişimden hazırlanmış olan çözeltilerle muamele edilerek pH 2'ye ayarlanıp oda sıcaklığında 12 saat karıştırılmıştır. Ardından ortam pH'sı 8'e ayarlanıp NaBH₄ çözeltisi ile indirgenme işlemi yapılmıştır. Nanopartiküller reaksiyon ortamından 14000 rpm ve 10 dakika santrifüjlenerek ayrılmıştır ve reaksiyona girmeyen maddeleri uzaklaştırmak için distile suyla yıkanmıştır.



Şekil 2.1. a) Nanoapoferritin yapısı, b) İki yüzlü nanopartikül yapısı

2.2.5. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Karakterizasyon Çalışmaları

Partiküllerin ortalama boyutu ve boyut dağılımı zeta sizer ile belirlenmiştir.

2.2.6. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Protein Miktarı Tayini

Bradford yöntemiyle protein tayini yapılmıştır. Farklı derişimlerdeki protein çözeltileri hazırlanıp Bradford çözeltileri eklenmiştir. 5 dakika kadar

beklenip, ardından 595 nm’de absorbans değerleri ölçülmüştür. 10,00; 20,0; 50,0 ve 100,0 ppm’lik standart protein çözeltileri kullanılmıştır. Derişime karşı absorans değerleri kaydedilerek, kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Bu grafikten yararlanarak nanoyapılardaki toplam protein miktarı tayin edilmiştir.

2.2.7. Enzim Kinetiği Çalışmaları

2.2.7.1. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerinin Tayini

İki yüzlü nanopartiküllerde aktivite tayini, tetrametilbenzidin (TMB) kromojenik substratının oksidasyonla mavi renkli ürüne dönüşümü, 450 nm’de zamana karşı absorbans değerlerinin izlenmesiyle spektroskopik yöntemle tespit edilmiştir. Aktivite hesaplarında kullanılan molar ekstinsiyon katsayısı (450) $5,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ olarak alınmıştır. Aktivite tayini farklı pH, sıcaklık, enzim ve substrat konsantrasyonları göz önüne alınarak incelenmiştir. Ölçümlerde 10 mM TMB ve 2 mM H_2O_2 içeren substrat çözeltisi kullanılmıştır. Aktivitede kullanılan toplam hacim mikropiakanın her bir kuyusu için 100 μL olarak çalışılmıştır.

Denklem 2.1 protein nanoyapıların aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılmıştır.

$$U = \frac{\Delta A}{t \times \epsilon_{450} \times l} \times V \times \frac{10^6 \mu\text{mol}}{1 \text{ mol}} \times \frac{1 \text{ L}}{10^6 \mu\text{L}} \quad (2.1)$$

Bu denklemde U ($\mu\text{mol}/\text{dak}$) unit aktiviteyi, ΔA mutlak absorpsiyonu, ϵ ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) 450 nm’deki TMB’in molar ekstinsiyon katsayısını, V (μL) çözeltinin toplam hacmini ifade etmektedir.

2.2.7.2. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerine pH’ın Etkisi

İki yüzlü nanoyapıların aktiviteleri üzerine pH’ın etkisinin incelenmesi için farklı pH değerlerinde (tartarik asit (pH: 3), asetik asit (pH: 4-5), potasyum fosfat monobazik ve potasyum fosfat dibazik (pH: 6-7-8), glisin (pH: 9-10), saf su, sodyum hidroksit ve hidroklorik asit) 100 mM’lık derişimlerde tampon

  zeltiller hazırlanmıştır. En büyük ünite aktivite değeri %100 kabul edip % aktivite değerleri hesaplanmıştır. pH değerlerine karşılık % aktivite grafikleri çizilip iki yüzlü nanoyapılar için en yüksek aktivite gösterdikleri pH değerleri saptanmıştır.

2.2.7.3. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerine Sıcaklık Etkisi

İki yüzlü nanoyapıların farklı sıcaklıklarda (25, 37 ve 45 C'de) aktivite ölçümleri yapılmıştır. İki yüzlü nanoyapıların aktiviteleri, sıcaklık değerlerine karşı % aktivite grafikleri çizilip, en yüksek aktivite gösterdikleri sıcaklık değerleri saptanmıştır.

2.2.7.4. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerine Substrat Derişiminin Etkisi

Farklı derişimlerde (1,00; 1,50; 2,00; 2,50; 3,00 mM) TMB çözeltileri hazırlanmıştır. 450 nm'de reaksiyon hızları saptanmıştır. Aktivite hesapları yapılp, Lineweaver-Burk grafikleri çizilmiştir.

2.2.7.5. İki Yüzlü Nanopartiküllerin Aktivitelerine Enzim Derişiminin Etkisi

Farklı derişimlerde iki yüzlü nanoyapılarını bulunduran   zeltiller hazırlanıp her biri için aktivite ölçümleri yapılmıştır. En yüksek aktivite değerine %100 denilerek enzim miktarlarına karşı bağıl aktiviteler saptanmıştır.

2.2.8. Elektrokimyasal  alışmalar

Deneylerde camsı karbon (GC)  alışma elektrotları kullanılmıştır. GC elektrotlar, zımpara kağıdı ile zımparalandıktan sonra sırasıyla 0,1  m ve 0,05  m tanecik boyutuna sahip alümina süspansiyonu ile parlatılmıştır. Sonra saf su ve aktif karbonla muamele edilmiş asetonitril-izopropil alkol (1:1) karışımı ile 5'er dakika sonikasyona tabi tutulmuştur.

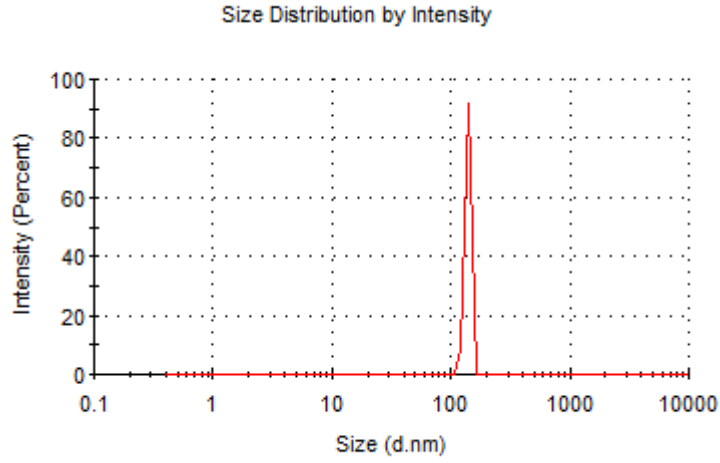
10 mg grafen üzerine 1 mL dimetil formamid ilave edilerek sonikasyona tabi tutulmuştur. Homojenliği sağlanan grafen çözeltisi yüzeyi temizlenen GC elektrotlara damlatılarak IR lamba altında kurutulmuştur. Hazırlanan grafen elektrotlara iki yüzlü nanoyapılar ve türevleri damlatılarak yüzeyler kurutulmuştur.

CA ve CV çalışmalarında, türlerin elektrokimyasal davranış mekanizmaları incelenirken fosfat tampon (pH: 7) çözelti sistemi kullanılmıştır. CA çalışmalarında elektroaktif türlerin önce CV voltamogramları alınmış ve tespit edilen indirgenme ve yükseltgenme potansiyelleri baz alınarak elektrot reaksiyonu henüz başlamamışken bir potansiyel değeri ve elektrot reaksiyonunun maksimum değere ulaşmasından hemen sonra bir potansiyel değeri, CA çalışmalarında potansiyel adımları olarak seçilmiştir.

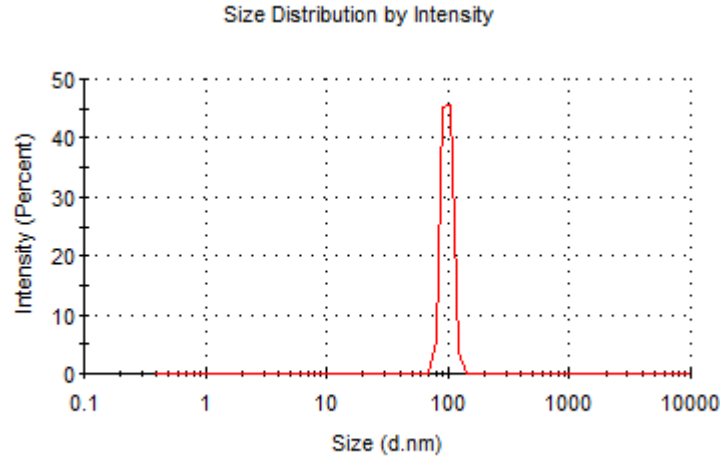
3. BULGULAR

3.1. NANOPARTİKÜLLERİN KARAKTERİZASYONU

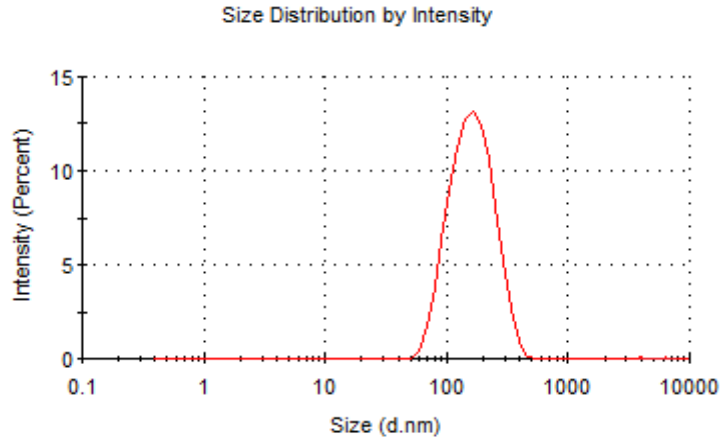
3.1.1. Zeta Boyut Analizi



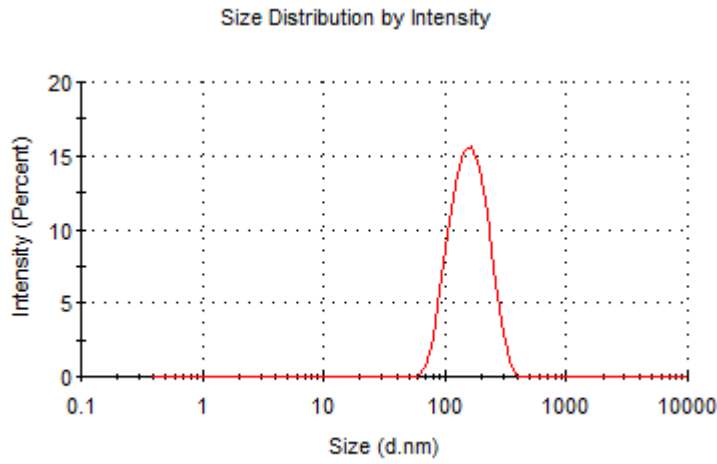
Şekil 3.1. Pt metali içeren iki yüzöl nanotartiküllerin boyut analizi



Şekil 3.2. Cu metali içeren iki yüzöl nanotartiküllerin boyut analizi



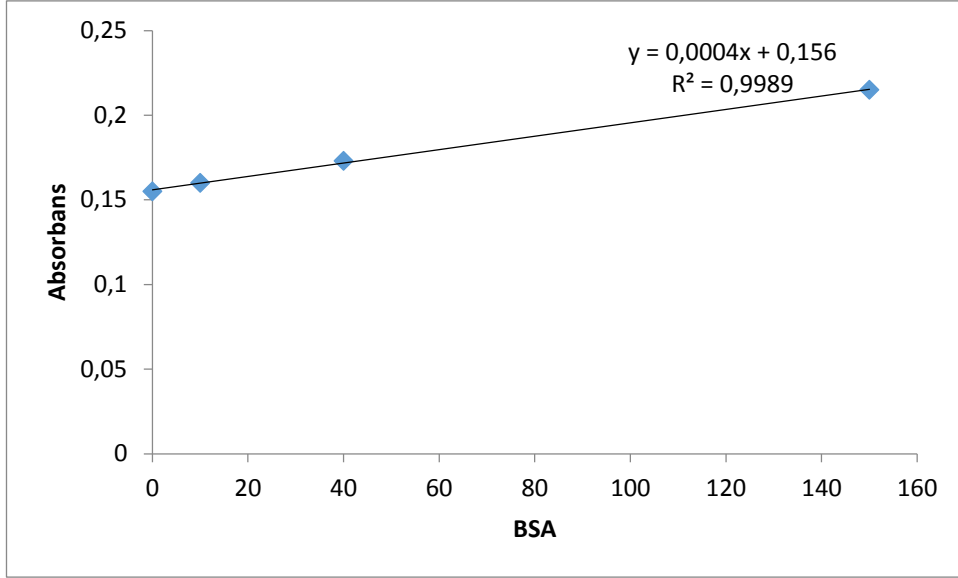
Şekil 3.3. Fe/Mn metallerini içeren iki yüzölçüm nanopartiküllerin boyut analizi



Şekil 3.4. Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzölçüm nanopartiküllerin boyut analizi

3.1.2. Nanopartiküllerde Bradford Methodu ile Protein Miktarı Tayini

Bradford yönteminde, proteinlerdeki pozitif yüke bağlanan negatif yüklü olan Commassie Brilliant Blue G-250 boya olarak kullanılmaktadır. Asidik ortamda boyanın protein yapısına bağlanması ile boyanın maksimum absorpsiyonu 465 nm (kırmızı) dan 595 nm (mavi) ye kaymasına sebep olmaktadır. Boya eklendikten 2 dakika sonra renk oluşumu tamamlanır.



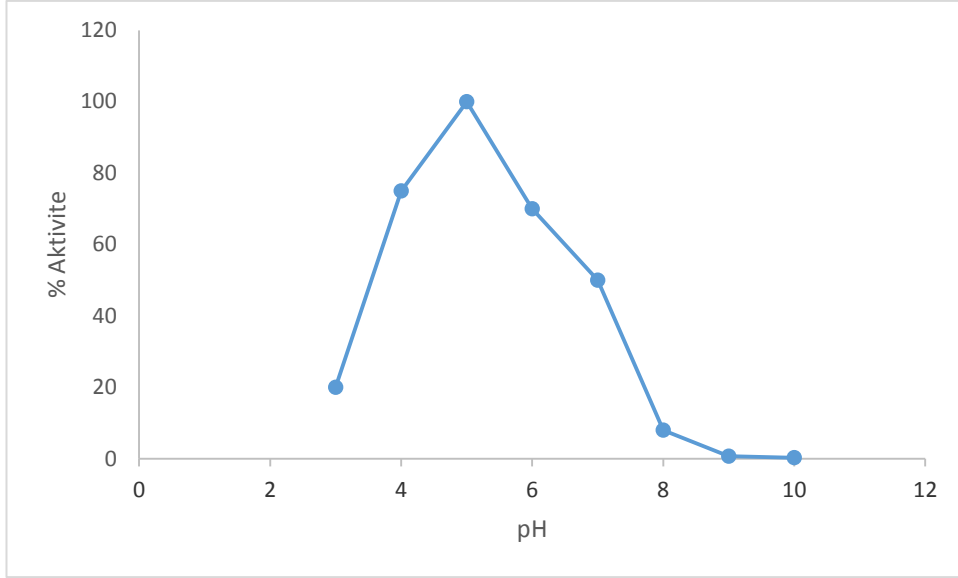
Şekil 3.5. İki yüzölçüm nanopartiküllerdeki protein miktarı tayini için oluşturulan kalibrasyon eğrisi

Bradford methodunda, protein miktarı tayini yapılırken farklı konsantrasyonlarda standart protein çözeltileri (bovin-serum albumin) hazırlanmıştır. Bradford belirteci, proteinlerle reaksiyona sokularak maksimum absorbans gösterdiği dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Değerler kullanılarak standart kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur ve nanoyapıların protein miktarları bu eğriyi kullanarak saptanmıştır.

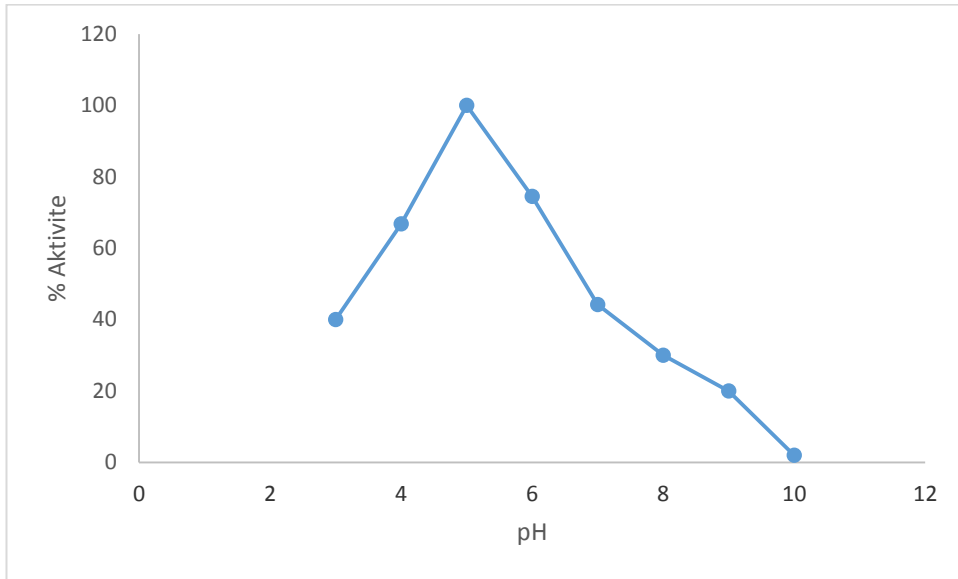
3.1.3. Kinetik Çalışmalar

3.1.3.1. pH Etkisi

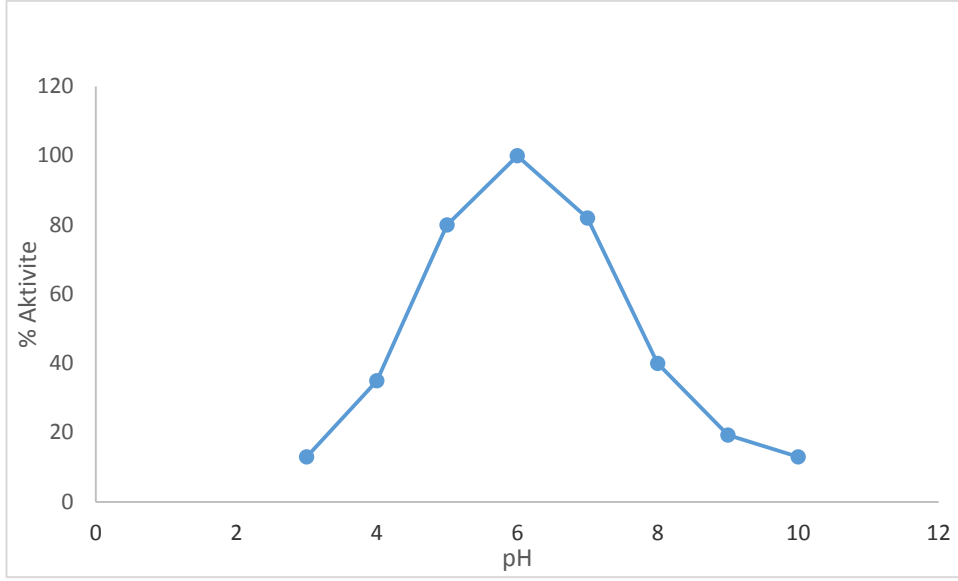
Oda sıcaklığında farklı pH değerlerinde (3-10) tampon çözeltileri kullanılarak yapılan ölçümlerde, iki yüzölçüm nanopartiküllerin enzim aktiviteleri saptanmıştır. Aktivite işlemlerinde 10 mM TMB ve 2 mM H₂O₂ substrat çözeltisi kullanılmıştır.



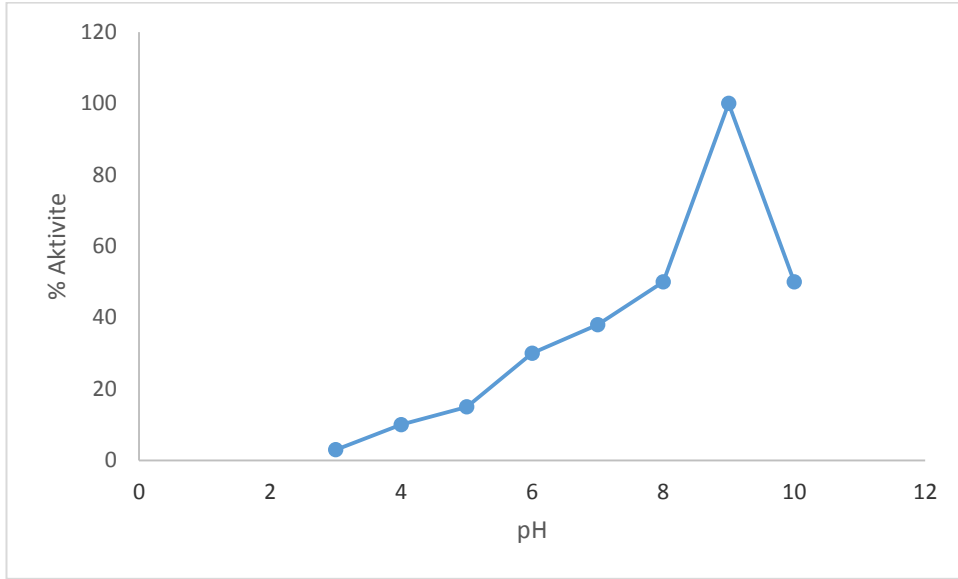
Şekil 3.6. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Pt metali içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi



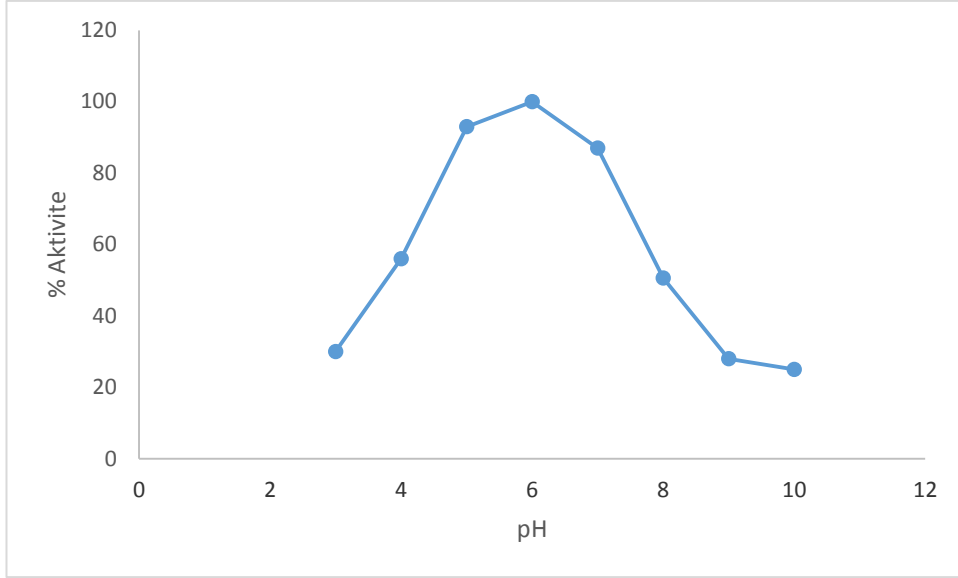
Şekil 3.7. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Mn metalini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi



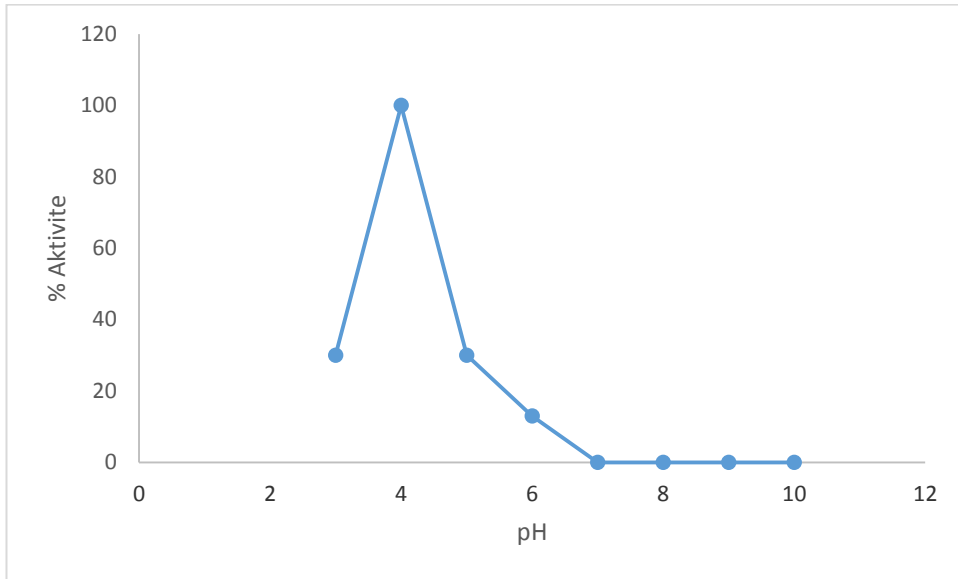
Şekil 3.8. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Cu metalini içeren iki yüzölçüm nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi



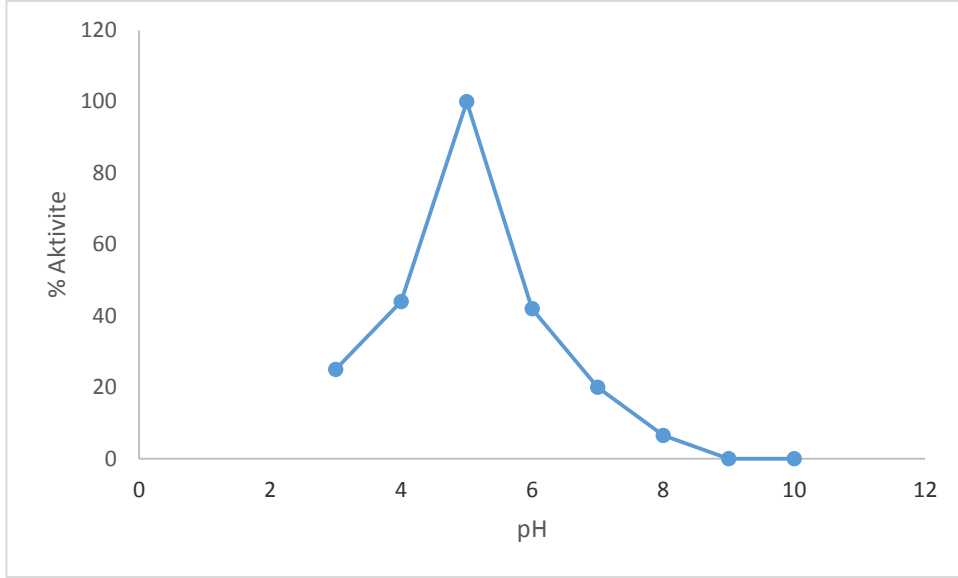
Şekil 3.9. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Fe metalini içeren iki yüzölçüm nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi



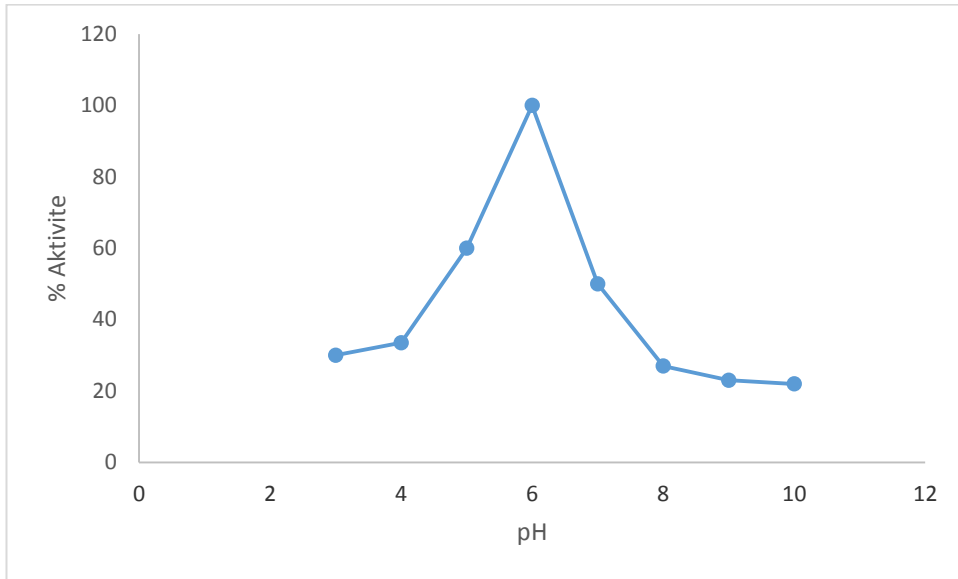
Şekil 3.10. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Mn/Fe metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi



Şekil 3.11. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Cu/Pt metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi



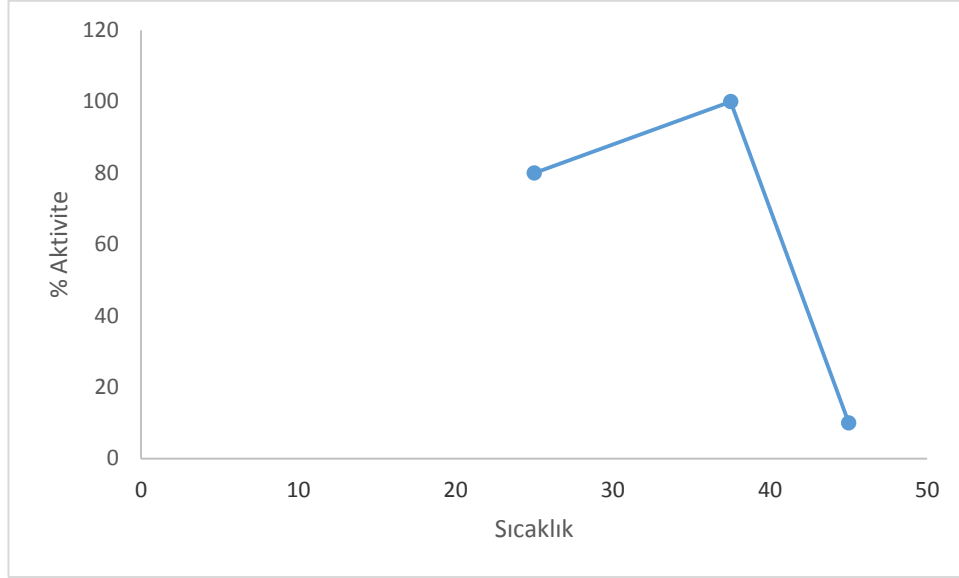
Şekil 3.12. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi



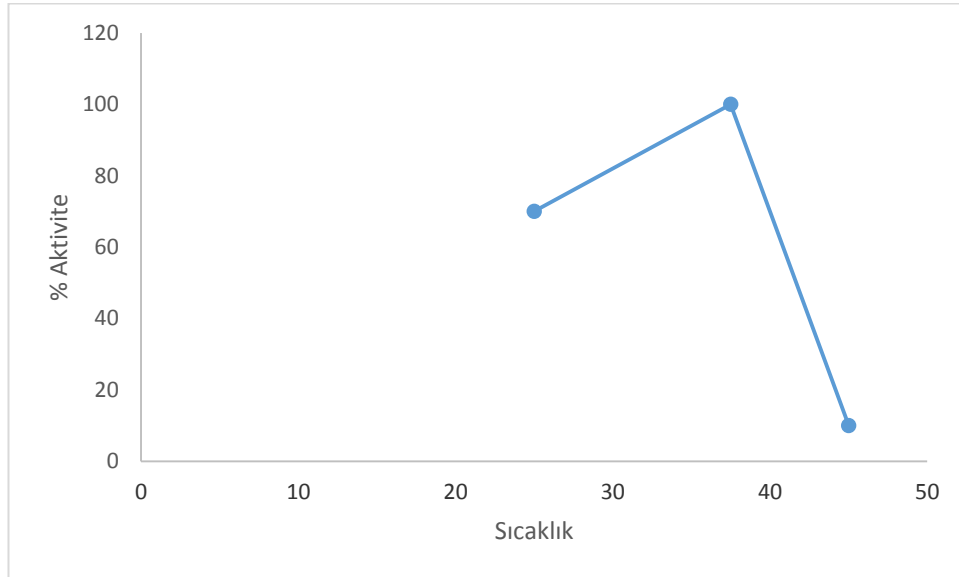
Şekil 3.13. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Pt/Mn/Fe/Cu metallerini içeren nanopartiküllerin aktivitelerinin pH ile değişimi

3.1.3.2. Sıcaklık Etkisi

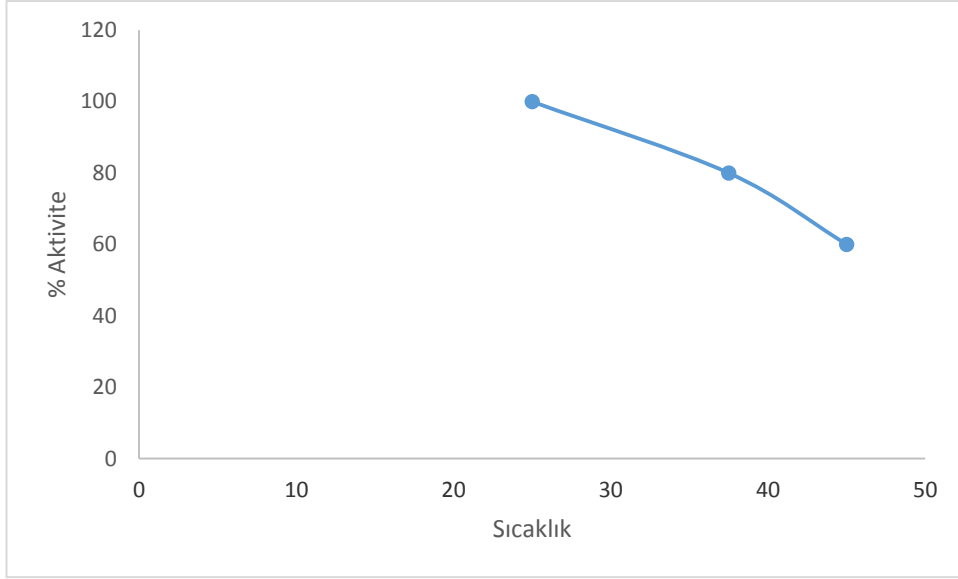
Enzim aktiviteleri 25, 37,5 ve 45°C’ de gerçekleştirilmiştir. Saptanmış olan optimum pH değerlerindeki tamponlar ve 10 mM TMB ve 2 mM H₂O₂ substrat çözeltisi ölçümler sırasında kullanılmıştır.



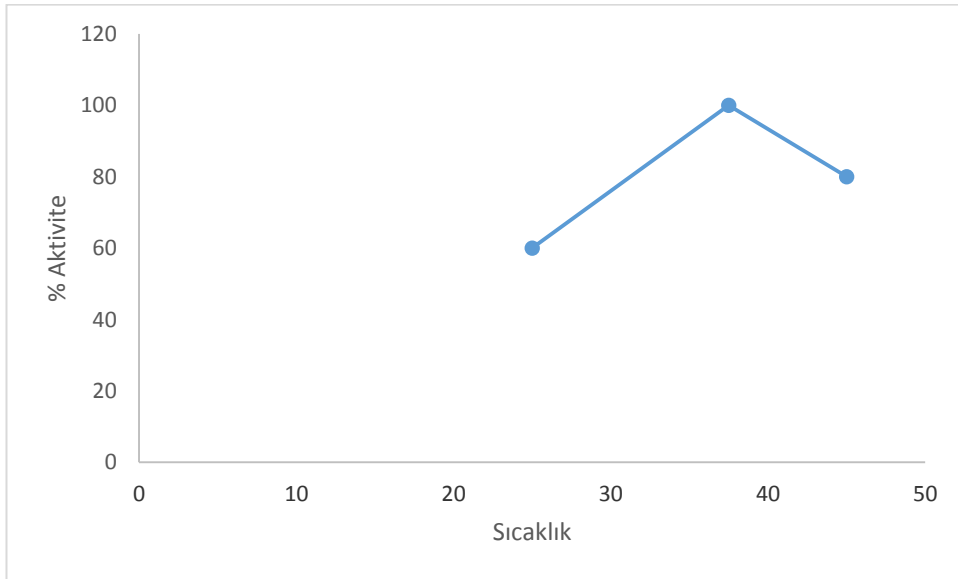
Şekil 3.14. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Pt metali içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi



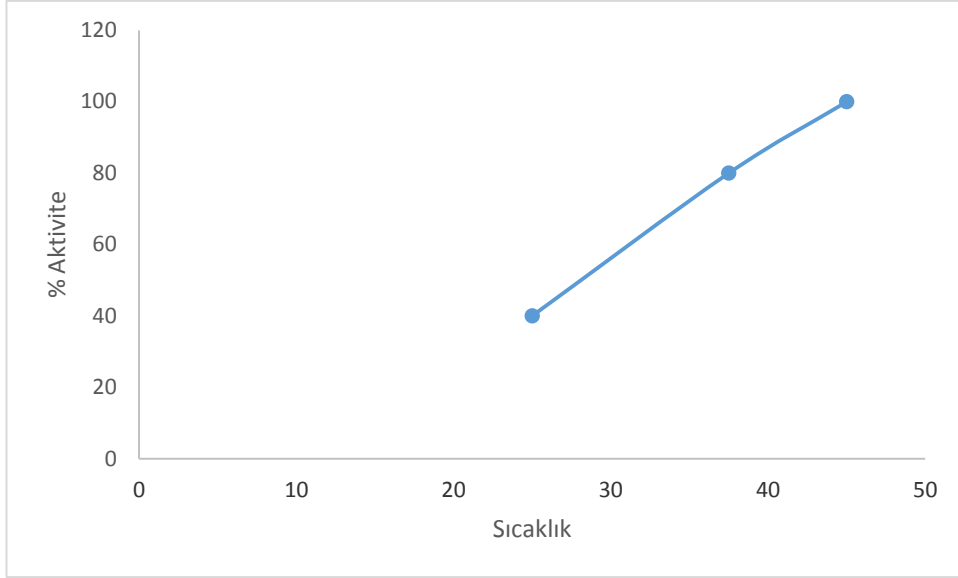
Şekil 3.15. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Mn metali içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi



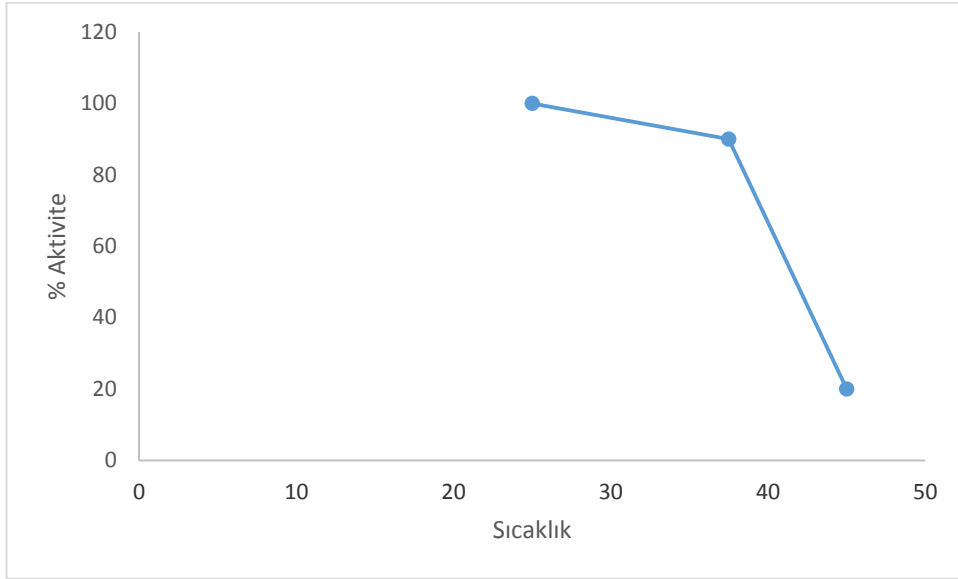
Şeki 3.16. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Cu metalini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi



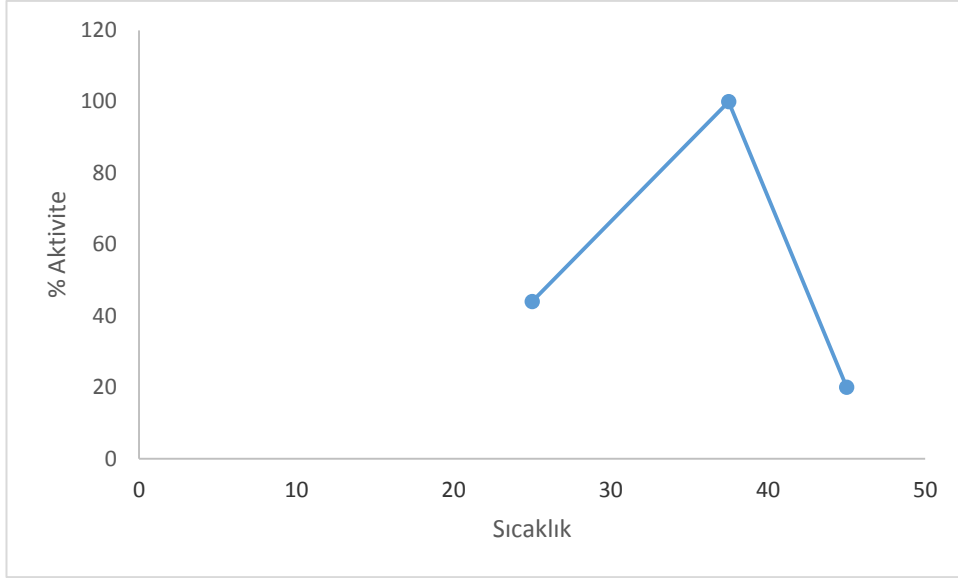
Şekil 3.17. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Fe metalini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi



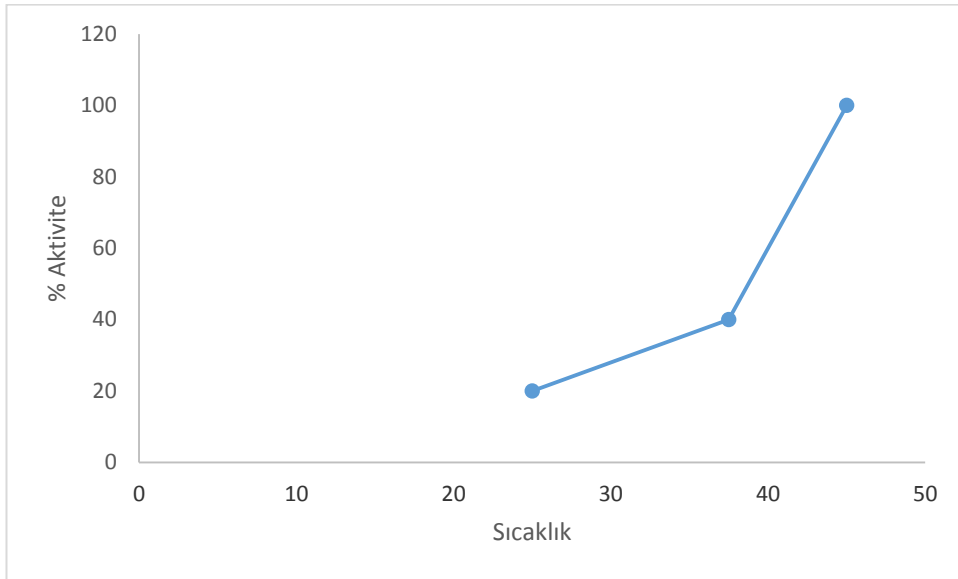
Şekil 3.18. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Mn/Fe metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi



Şekil 3.19. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Cu/Pt metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi

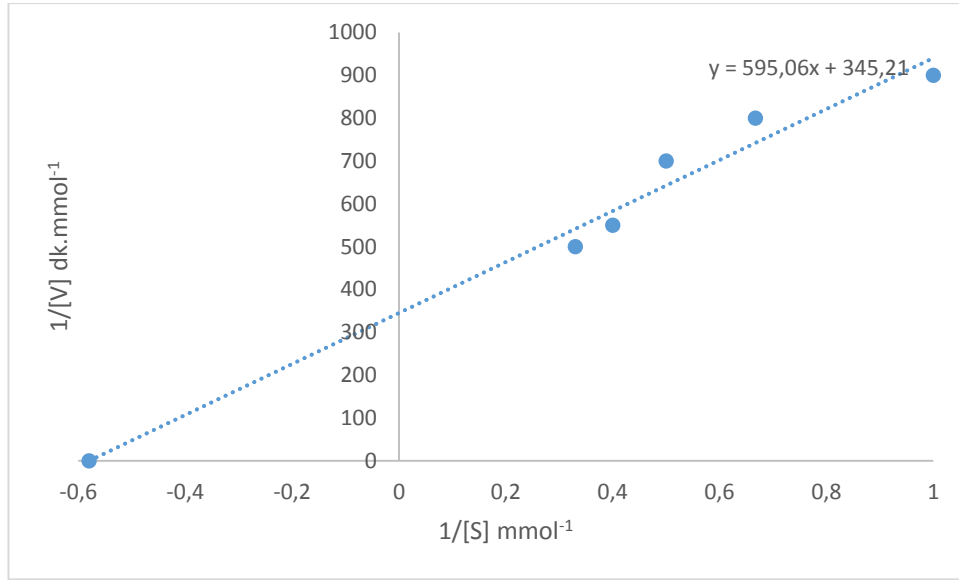


Şekil 3.20. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi

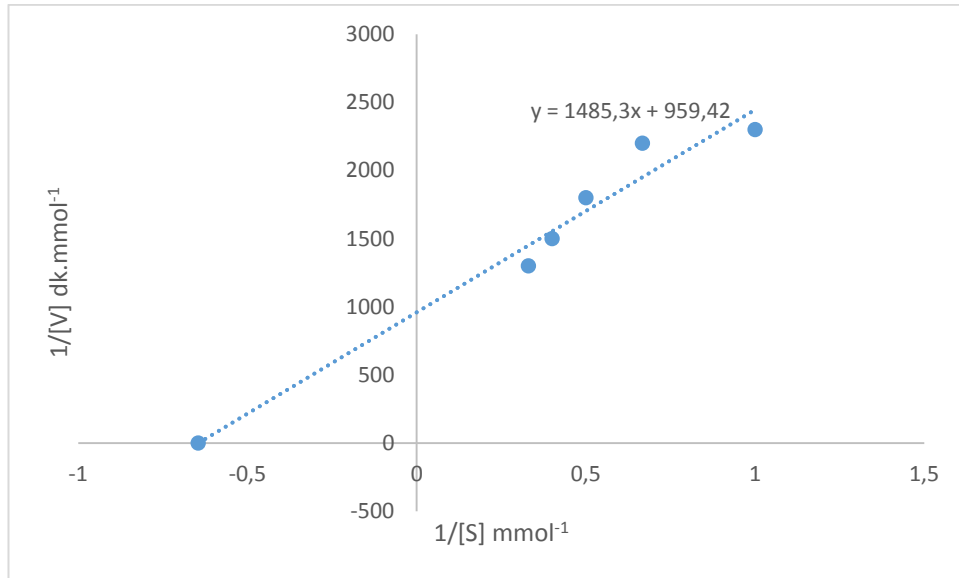


Şekil 3.21. Substrat olarak TMB kullanıldığında, Pt/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküllerin aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi

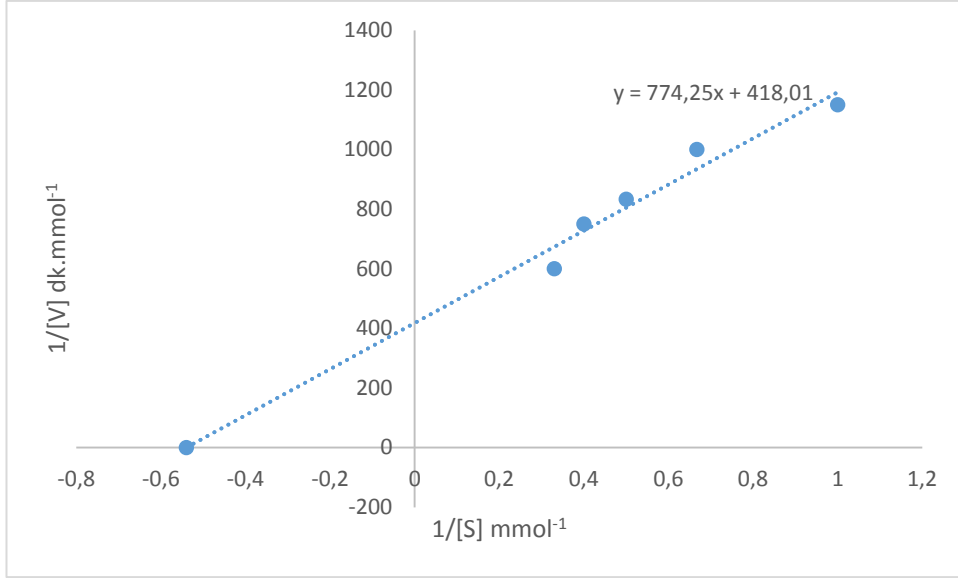
3.1.3.3. Substrat Derişimi Etkisi



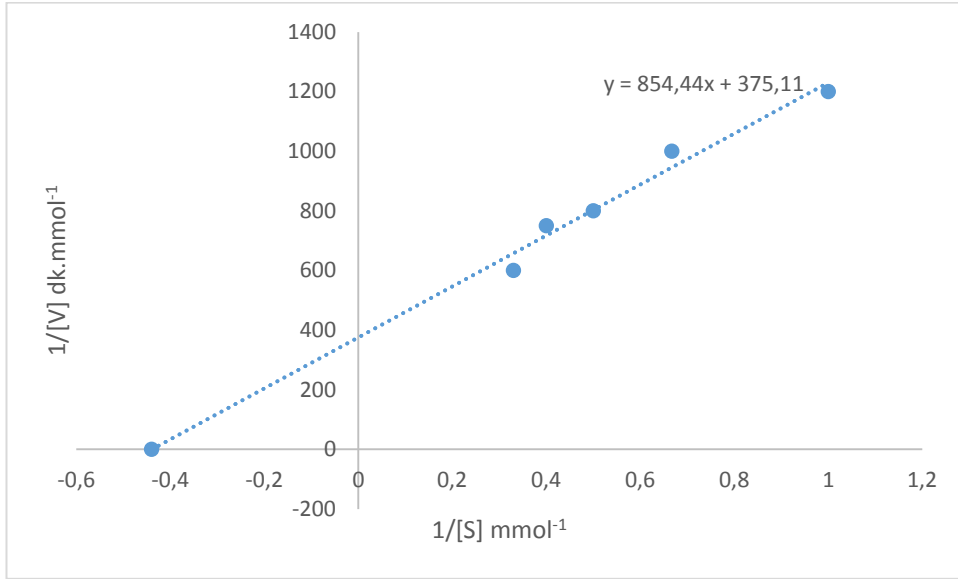
şekil 3.22. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 5 tamponu kullanılarak, enzim derişimi 50 ppm olan Pt metali içeren iki yüzlü nanopartiküllerle oluşturulan Lineweaver - Burk grafiği



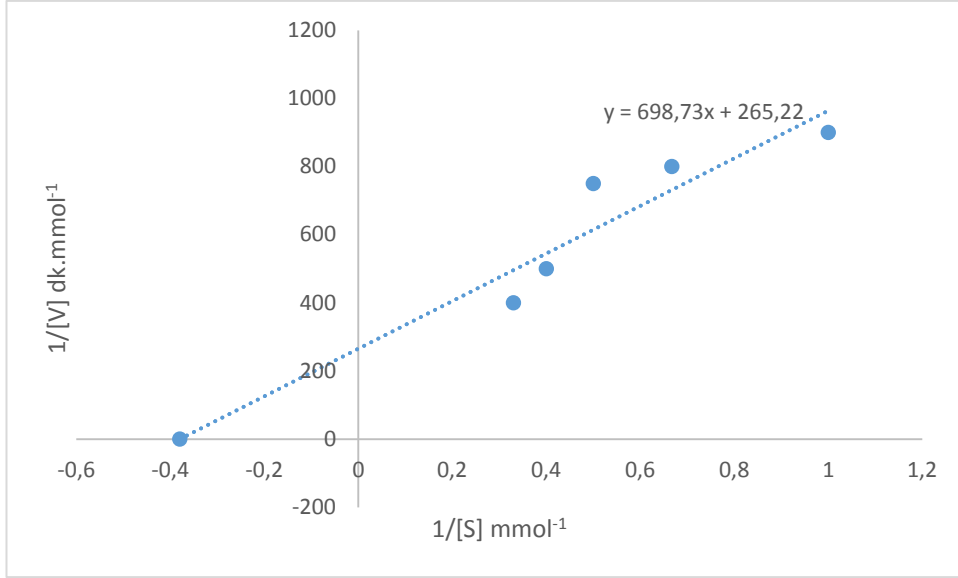
şekil 3.23. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 5 kullanılarak, enzim derişimi 40 ppm olan Mn metali içeren iki yüzlü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver – Burk grafiği



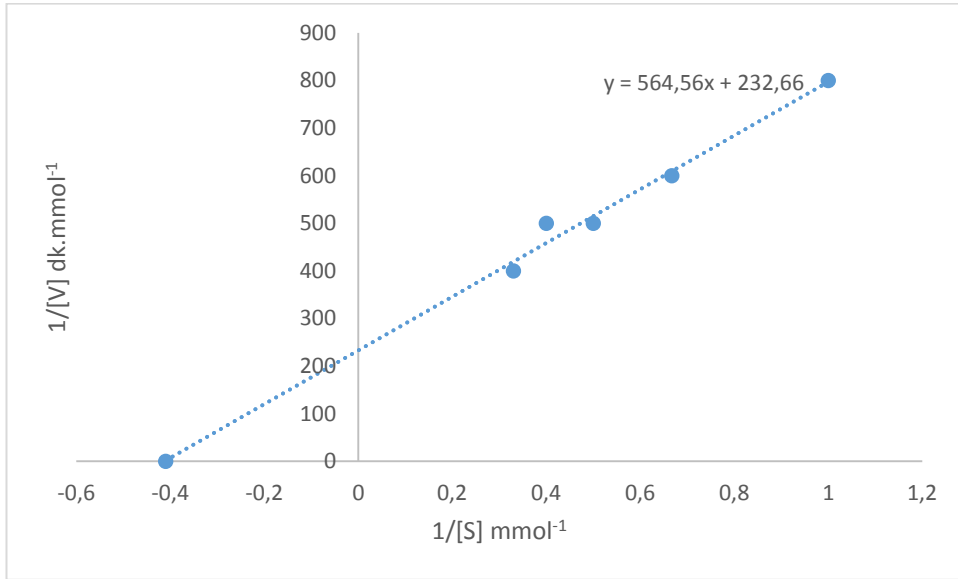
Şekil 3.24. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 6 kullanılarak, enzim derişimi 50 ppm olan Cu metali içeren iki yüzölü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı



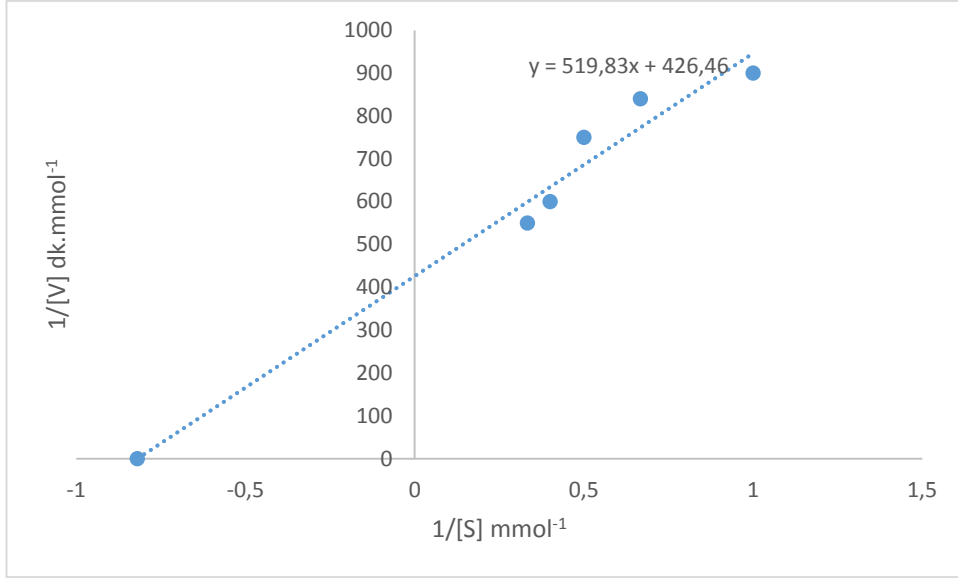
Şekil 3.25. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 9 kullanılarak, enzim derişimi 70 ppm olan Fe metali içeren iki yüzölü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver – Burk grafiğı



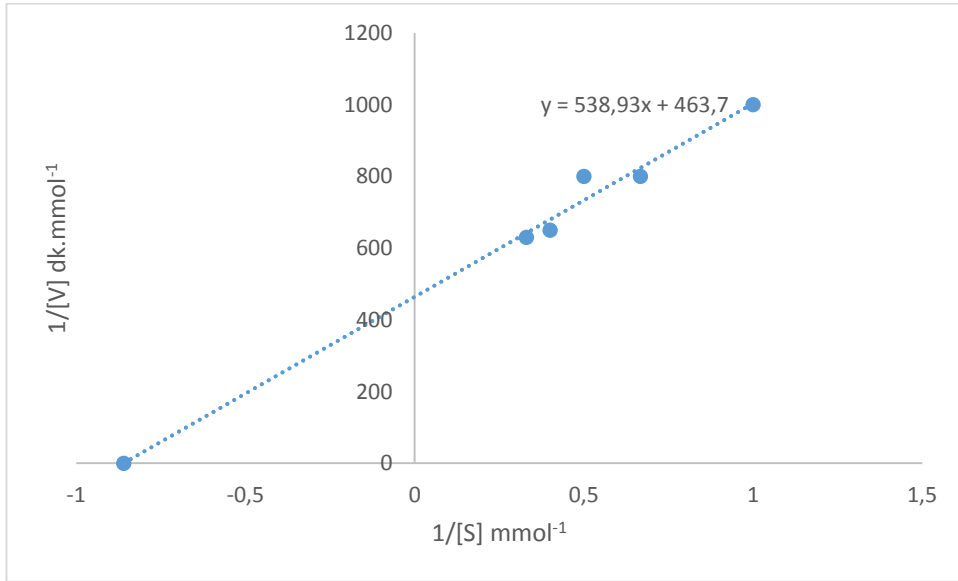
Şekil 3.26. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 6 kullanılarak, enzim derişimi 60 ppm olan Mn/Fe metallerini içeren iki yüzölü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı



Şekil 3.27. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 4 kullanılarak, enzim derişimi 80 ppm olan Pt/Cu metallerini içeren iki yüzölü nanopartiküller ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı

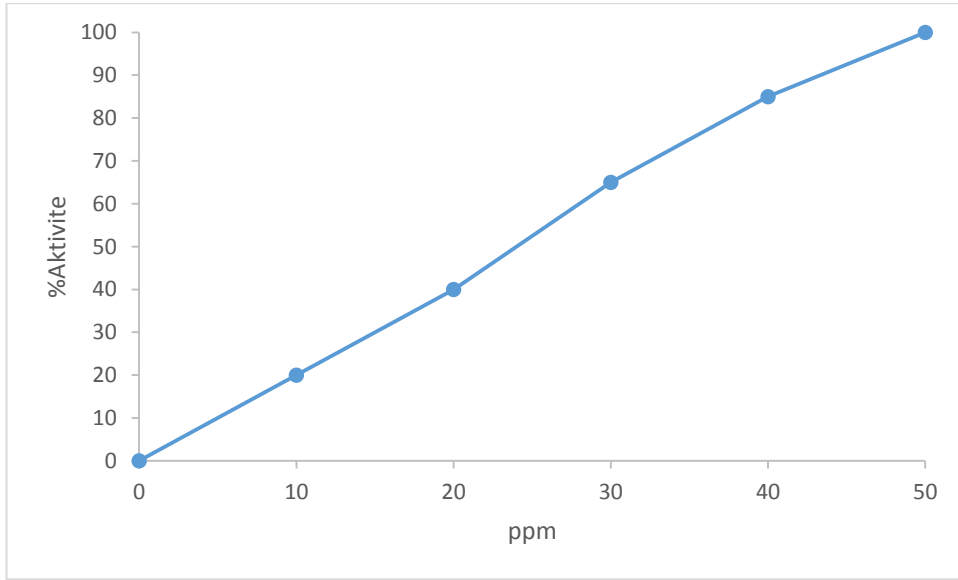


Şekil 3.28. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 5 kullanılarak, enzim derişimi 50 ppm olan Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzölü nanopartikülleri ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı

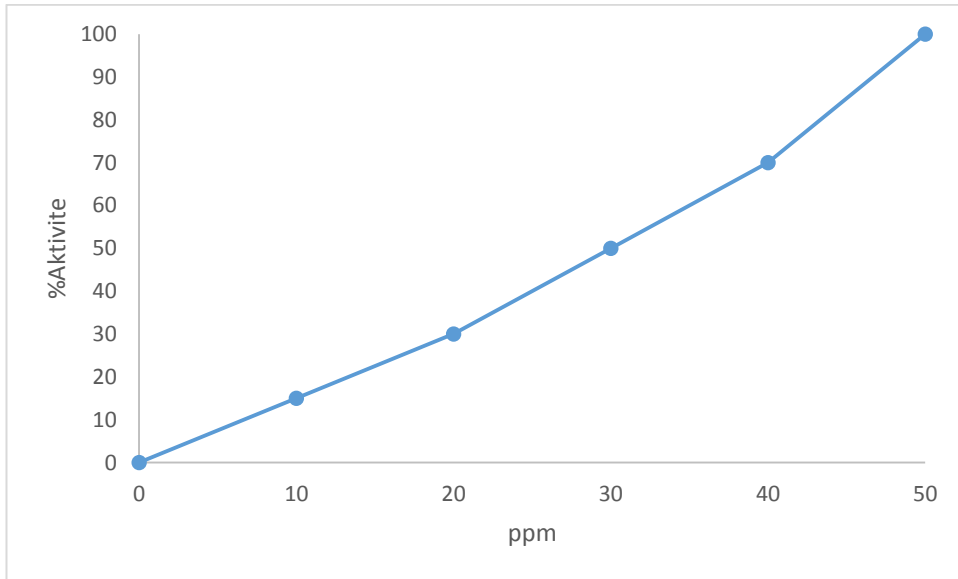


Şekil 3.29. Farklı derişimlerdeki TMB substratı ve pH 6 kullanılarak, enzim derişimi 60 ppm olan Pt/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzölü nanopartikülleri ile oluşturulan Lineweaver - Burk grafiğı

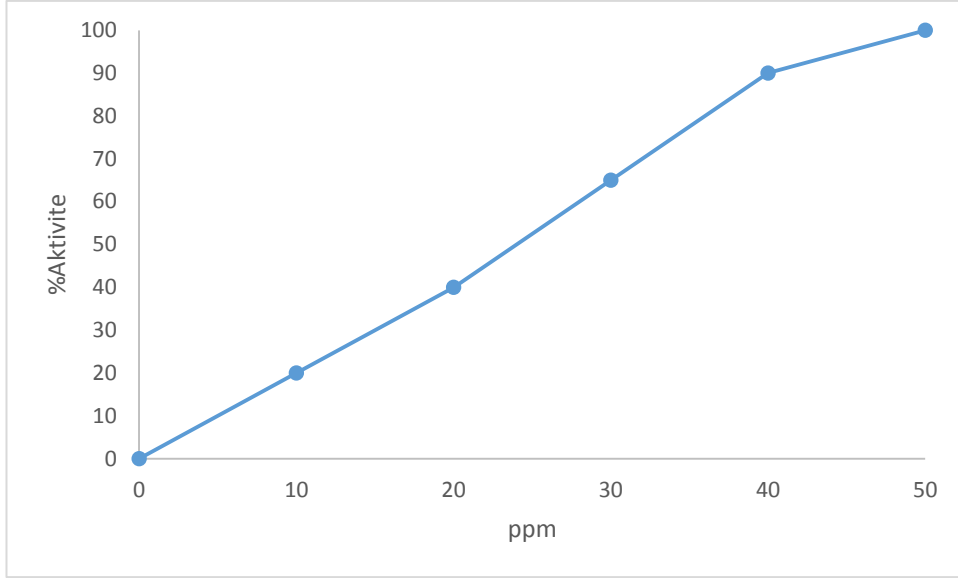
3.1.3.4. Enzim Derişiminin Etkisi



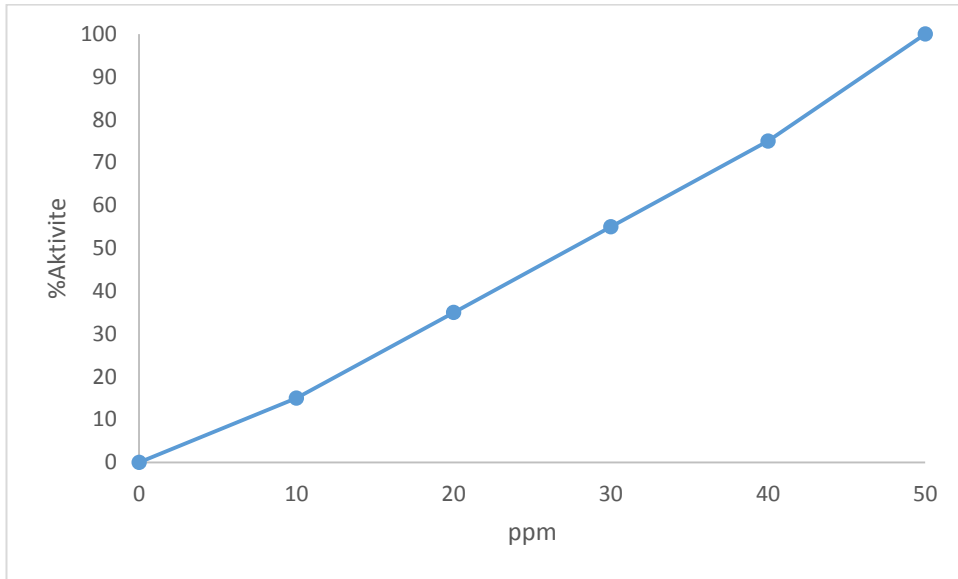
Şekil 3.30. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 5; enzim derişimi 50 ppm olan Pt metali içeren iki yüzölü nanopartiküller)



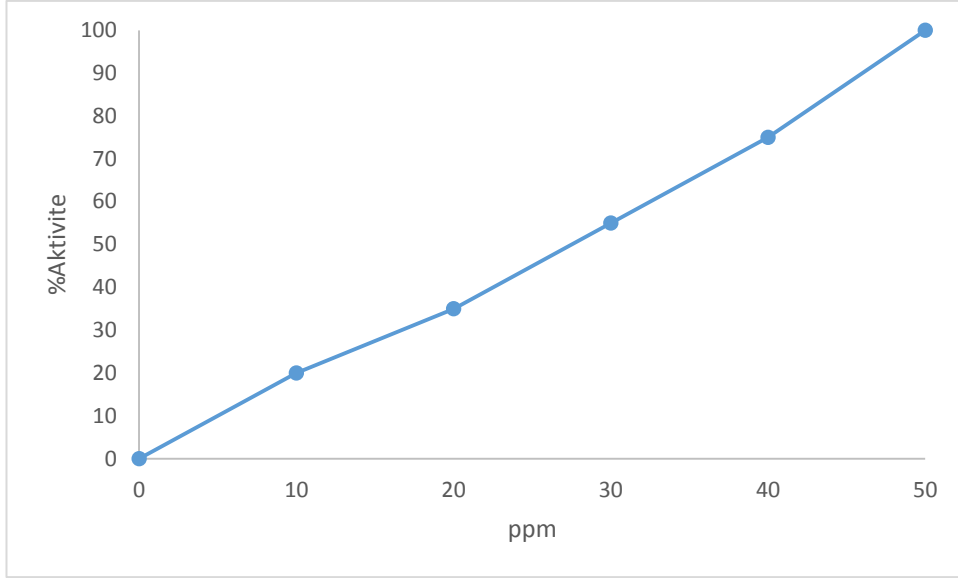
Şekil 3.31. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH; enzim derişimi 40 ppm olan Mn metali içeren iki yüzölü nanopartiküller)



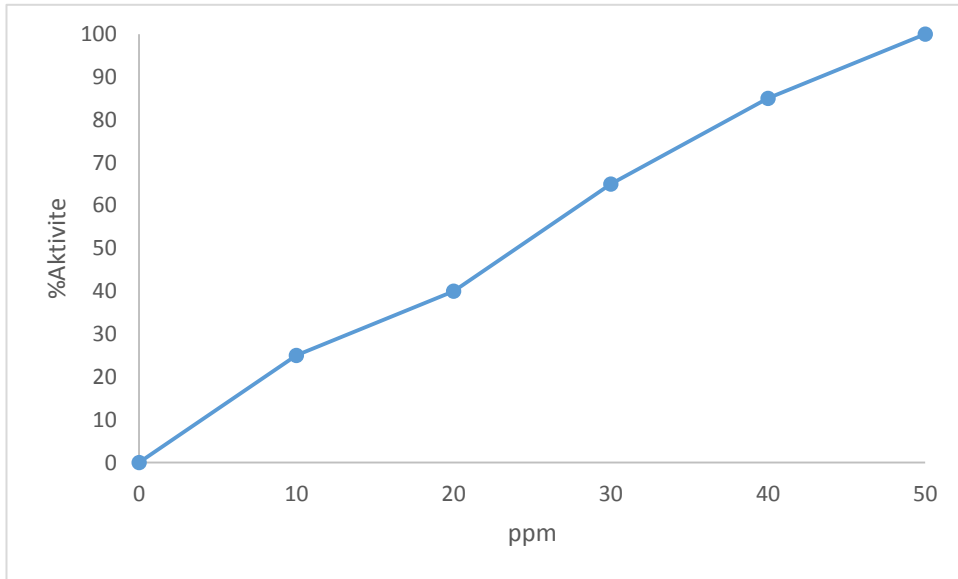
Şekil 3.32. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 6; enzim derişimi 50 ppm olan Cu metali içeren iki yüzölü nanopartiküller)



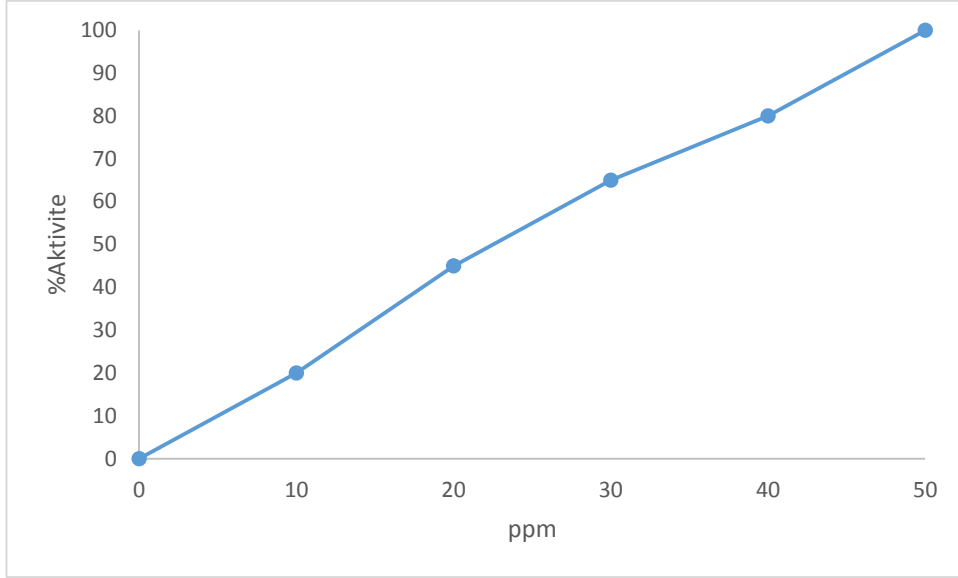
Şekil 3.33. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 9; enzim derişimi 70 ppm olan Fe metali içeren iki yüzölü nanopartiküller)



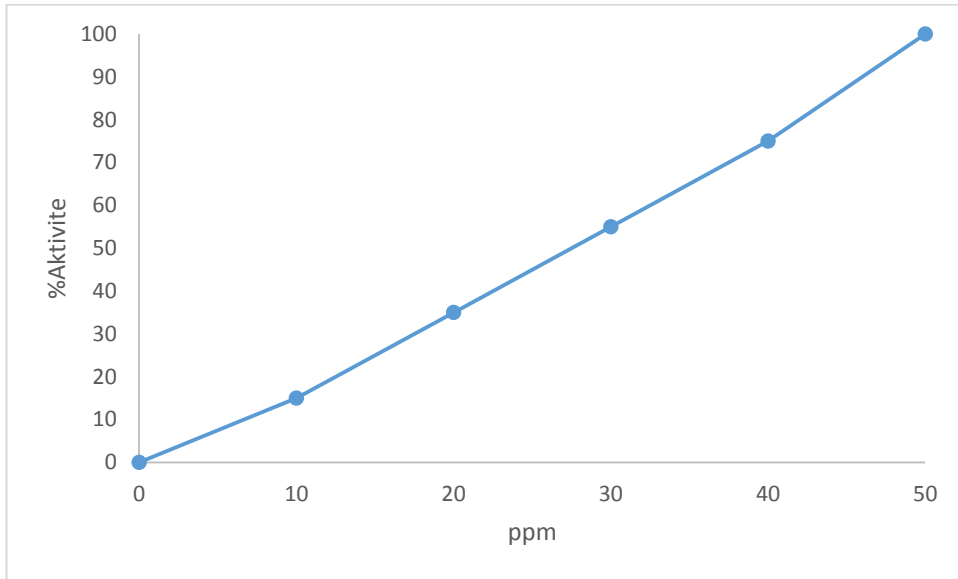
Şekil 3.34. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 6; enzim derişimi 60 ppm olan Mn/Fe metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküller)



Şekil 3.35. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 5; enzim derişimi 80 ppm olan Pt/Cu metallerini içeren iki yüzlü nanopartiküller)

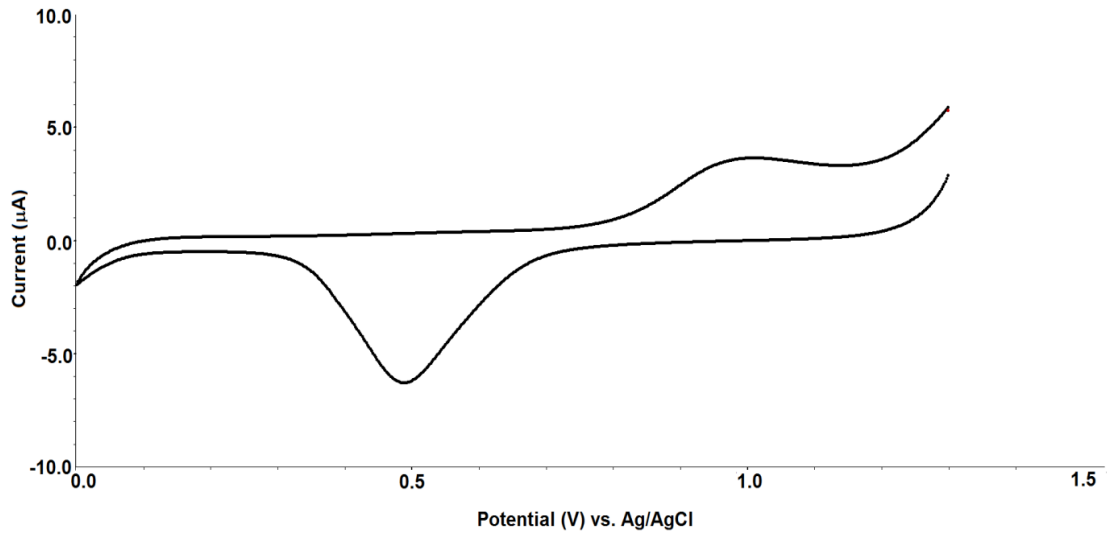


Şekil 3.36. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH 5; enzim derişimi 50 ppm olan Ag/Mn/Cu/Fe metallerini içeren iki yüzölü nanopartiküller)

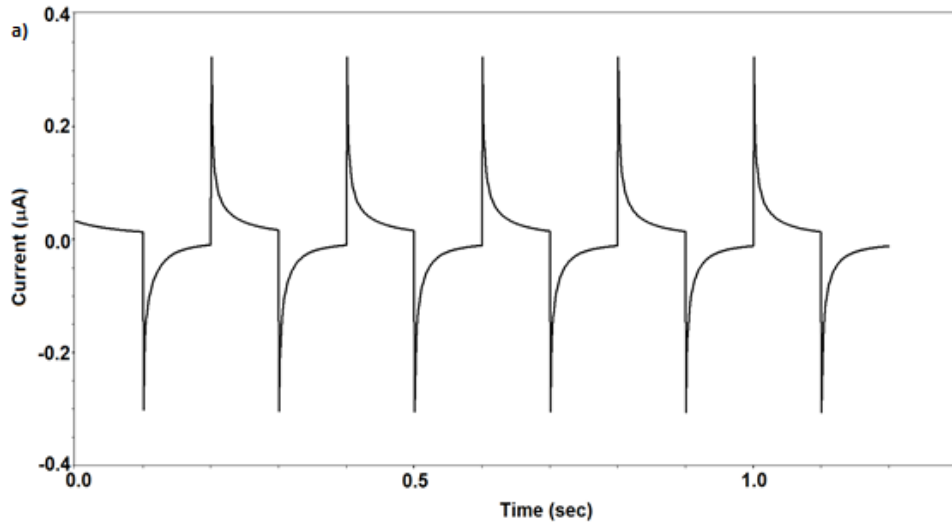


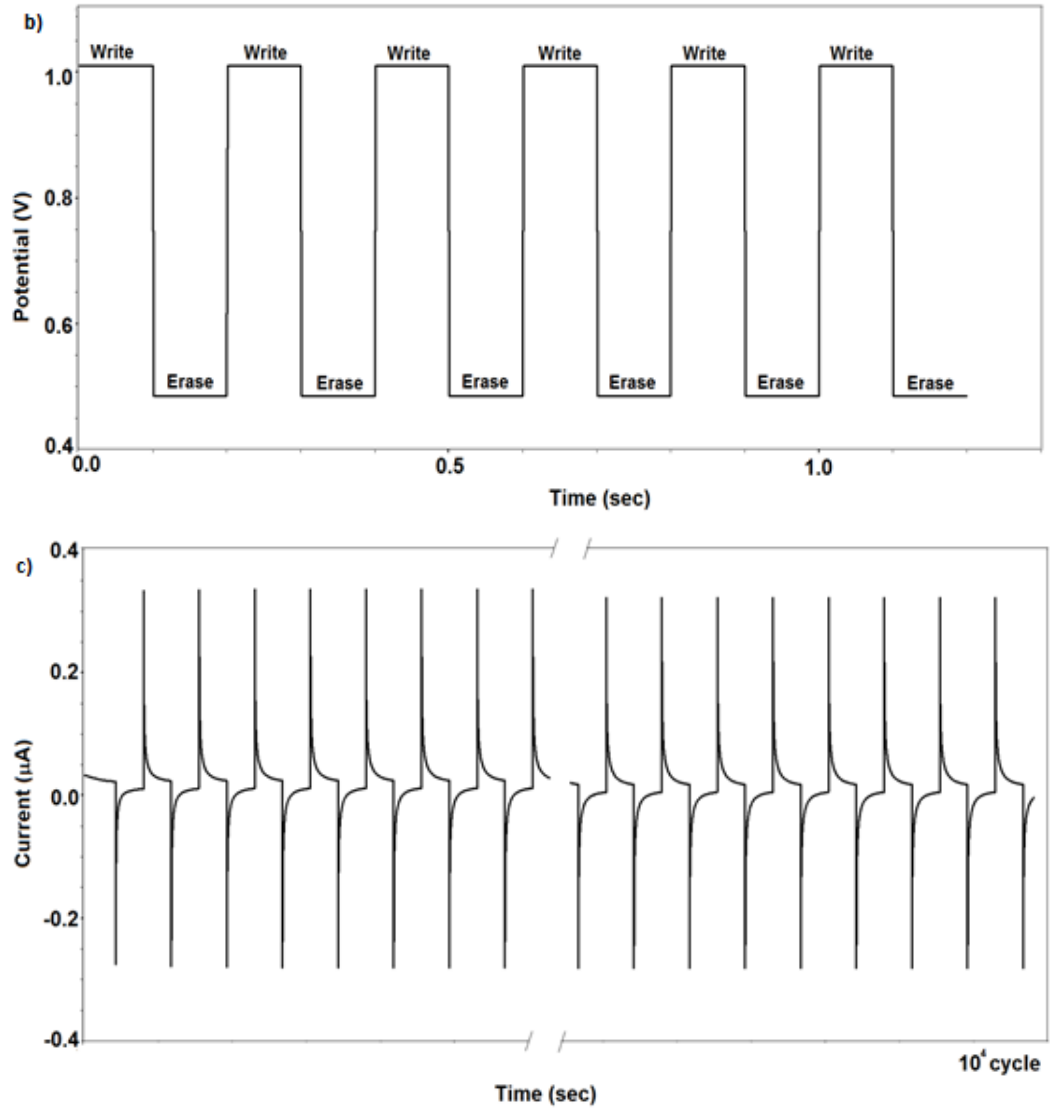
Şekil 3.37. Enzim derişimin aktivite üzerine etkisi (substrat: TMB; pH; enzim derişimi 60 ppm olan Pt/Mn/Cu/Fe metallerini içeren iki yüzölü nanopartiküller)

3.1.4. Elektrokimyasal Çalışmalar

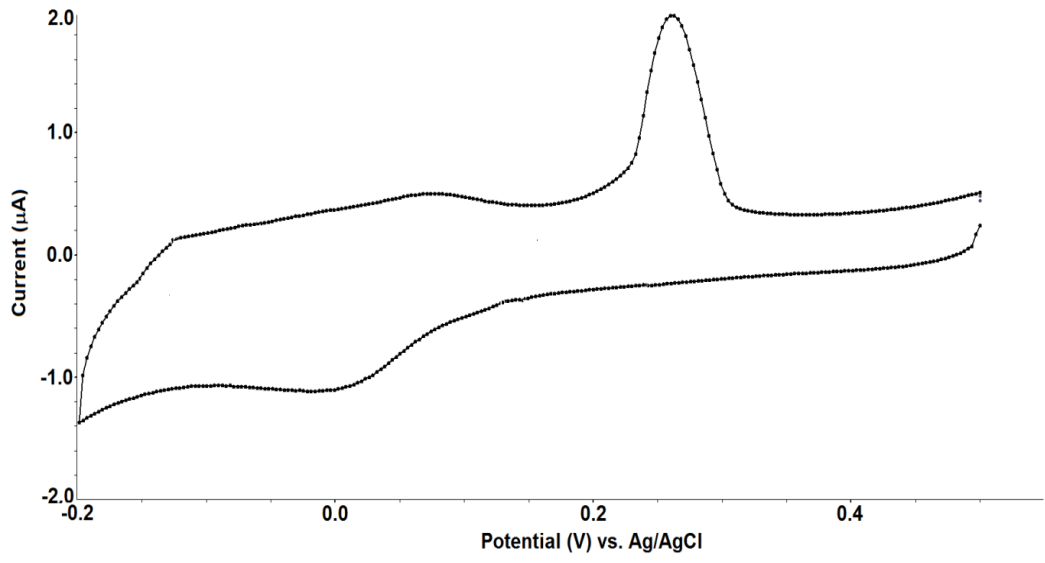


Şekil 3.38. Nanoapoferritin'in 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı

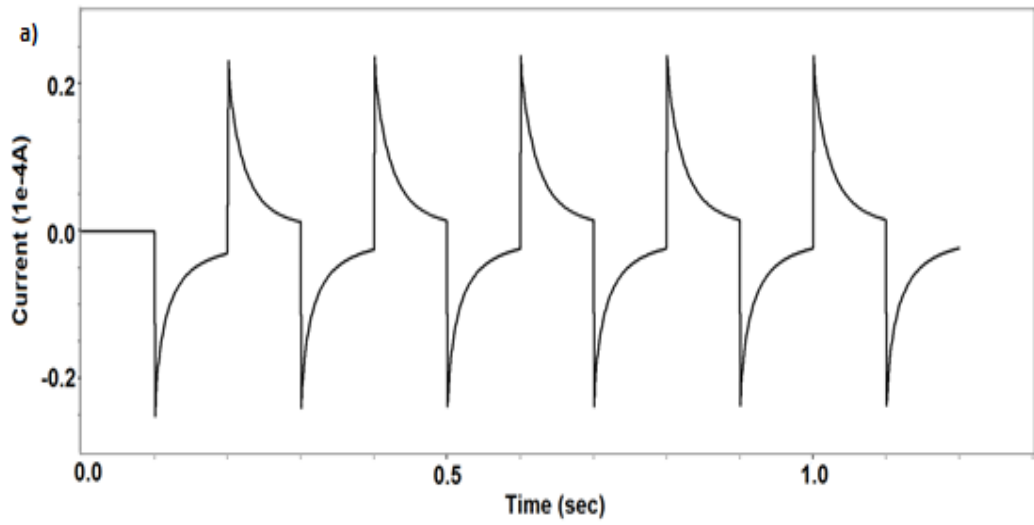


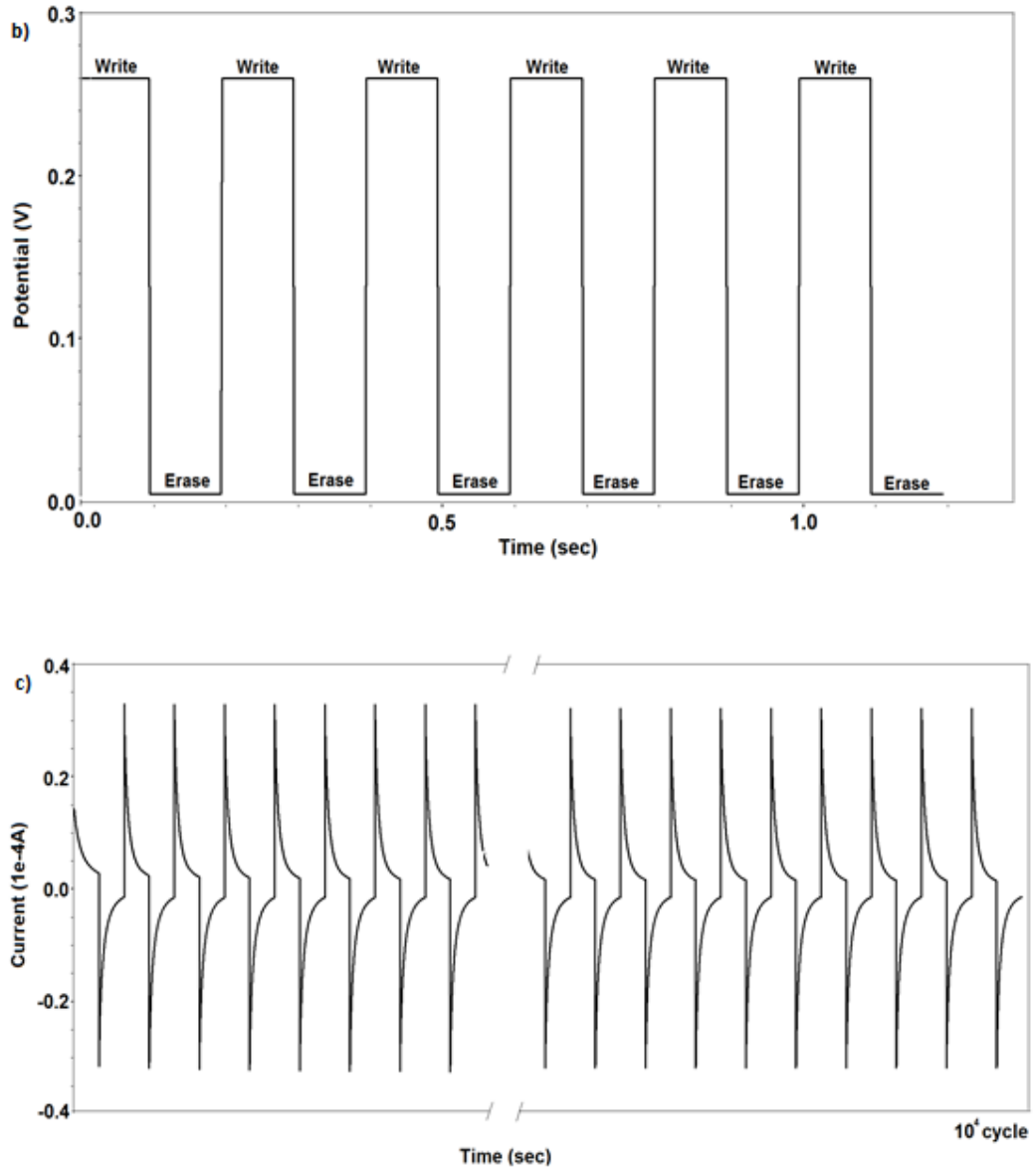


Şekil 3.39. Apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği, **a)** Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, **b)** 120 ms’de akım yüklenerek yapılan ölçümler, **c)** Belleğin cevap verdiği akımlar

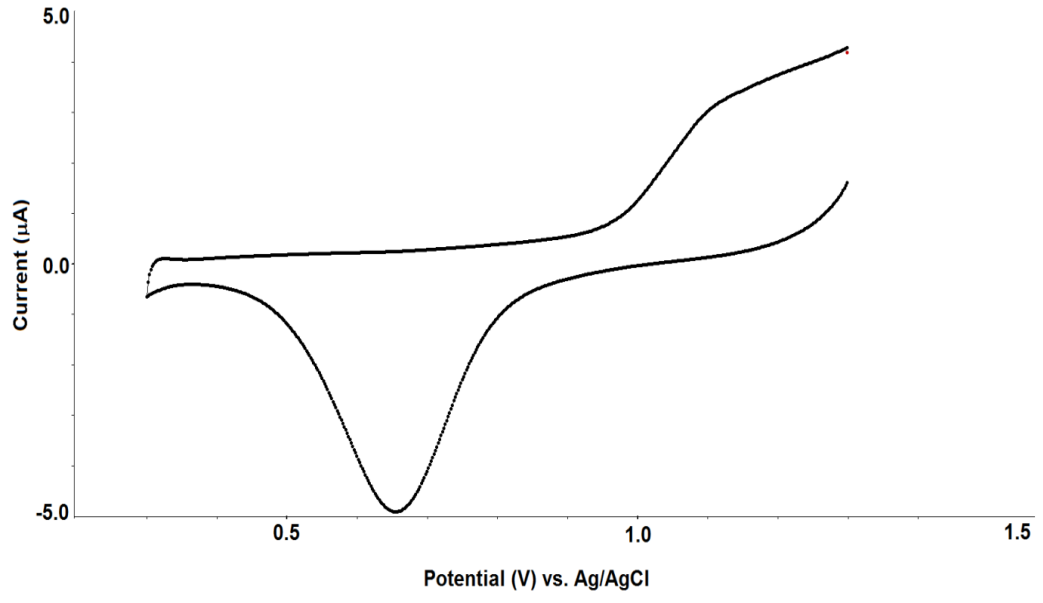


Şekil 3.40. Ag metalini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı

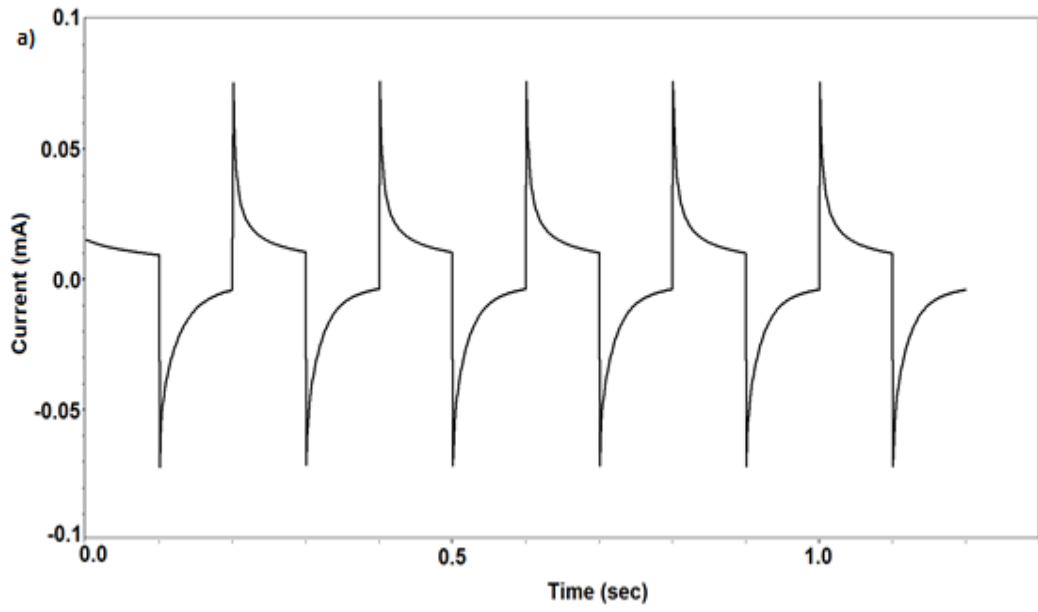


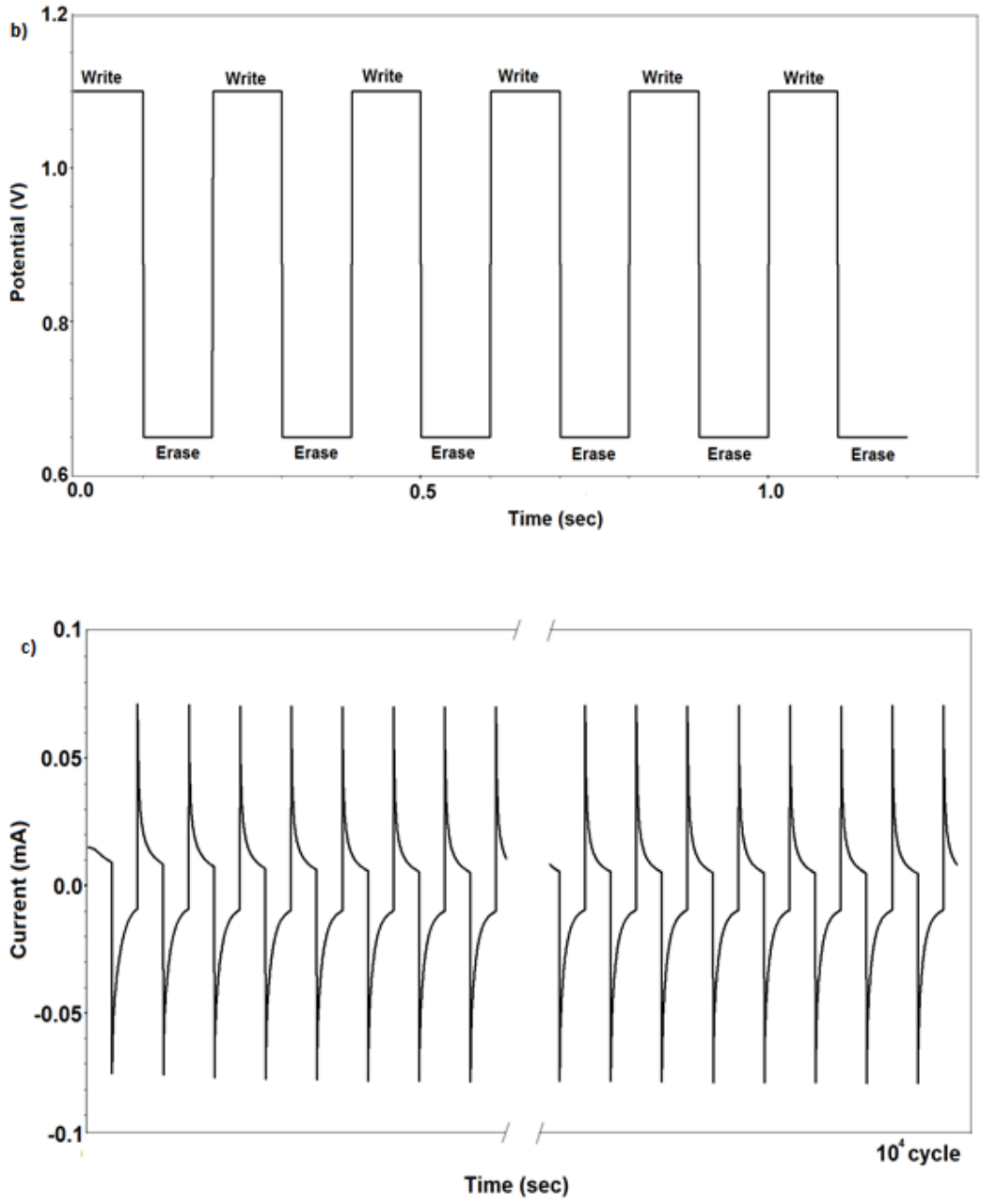


Şekil 3.41. Ag apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği **a)** Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, **b)** 120 ms'de akım yüklenerek yapılan ölçümler, **c)** Belleğin cevap verdiği akımlar

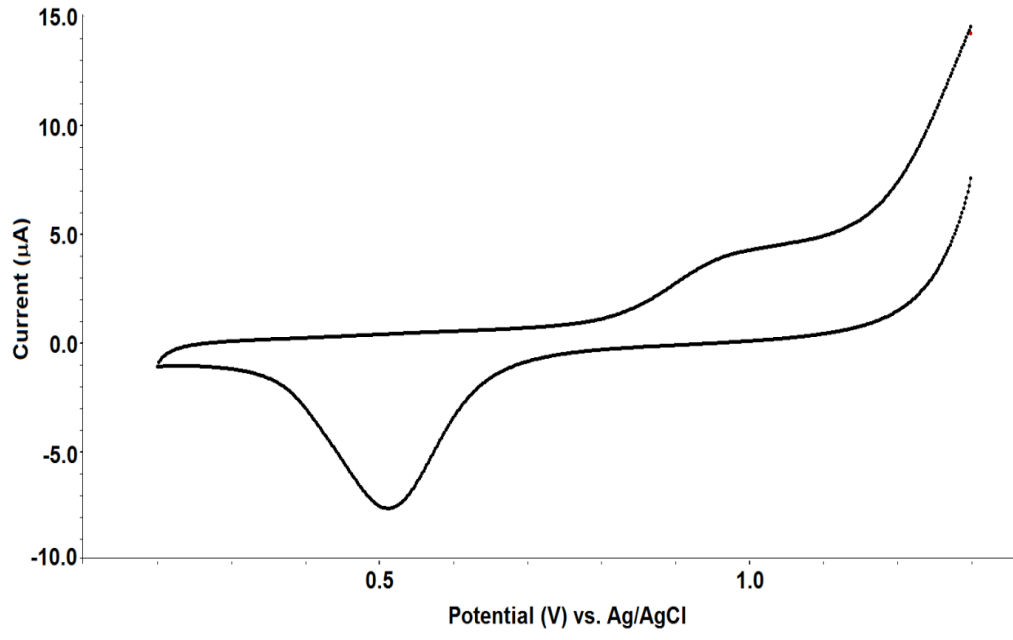


Şekil 3.42. Cu metalini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı

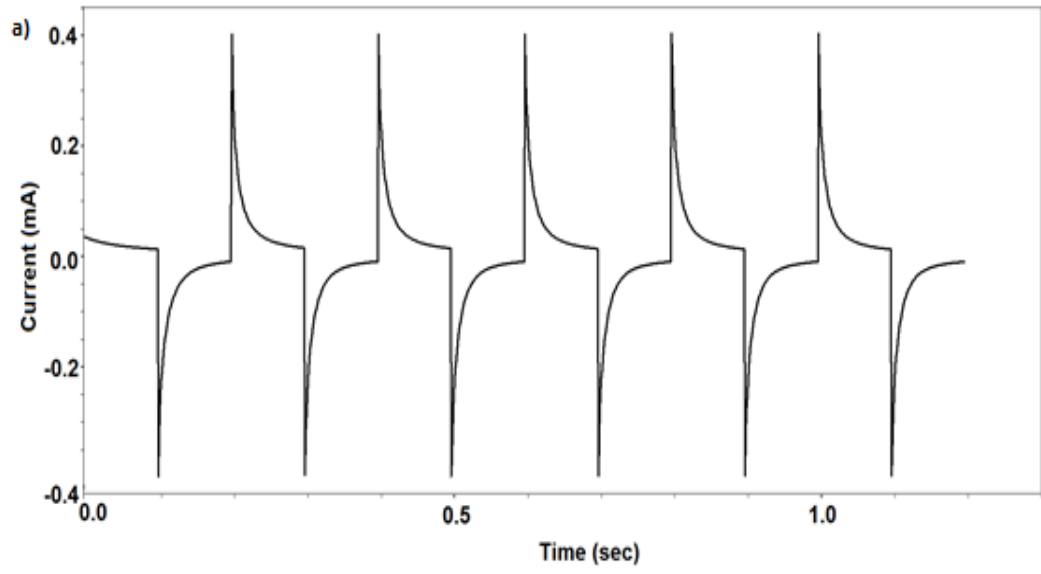


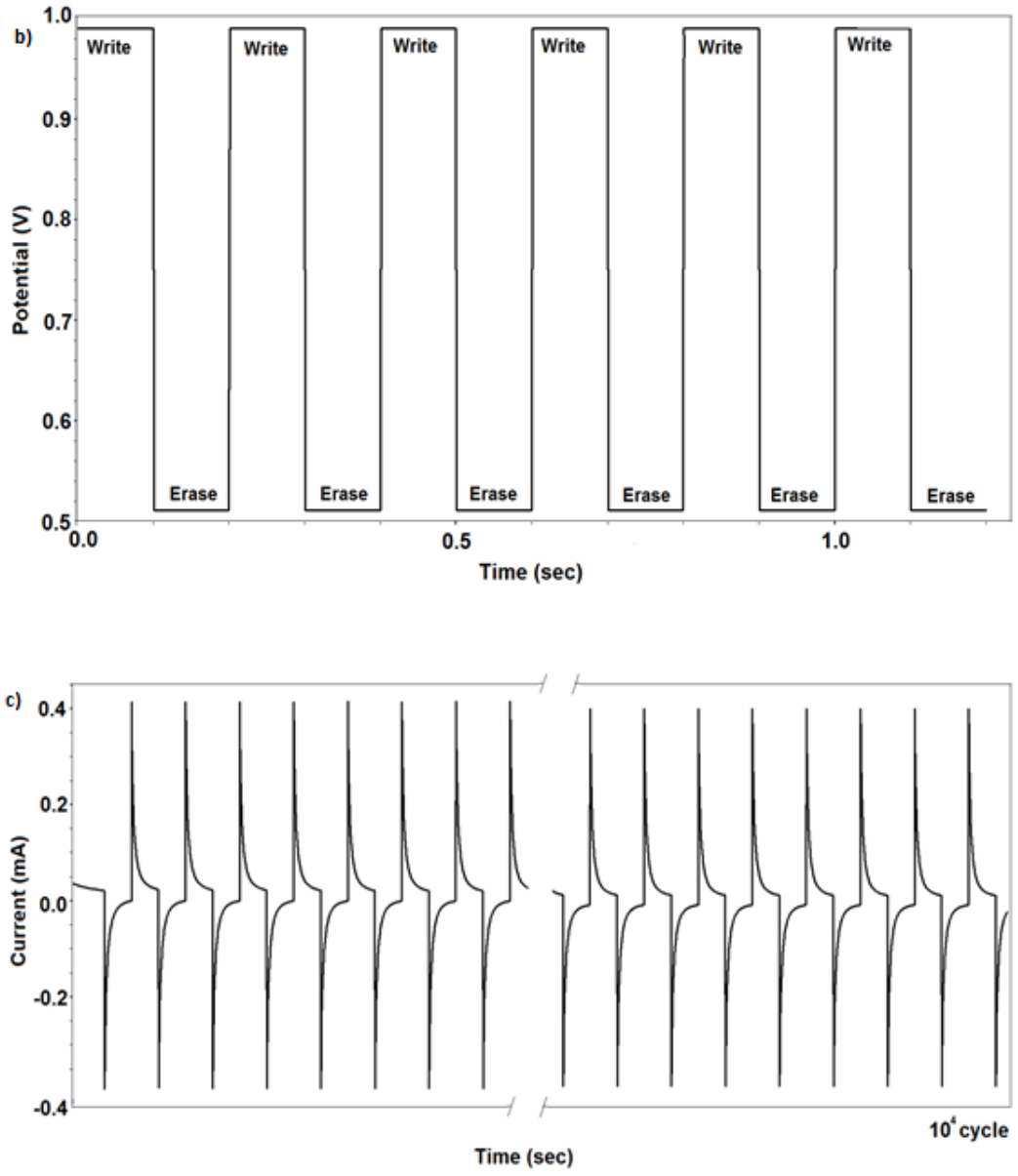


Şekil 3.43. Cu metalini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtında ki hafıza fonksiyonunun karakteristiği **a)** Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, **b)** 120 ms’de akım yüklenerek yapılan ölçümler, **c)** Belleğin cevap verdiği akımlar

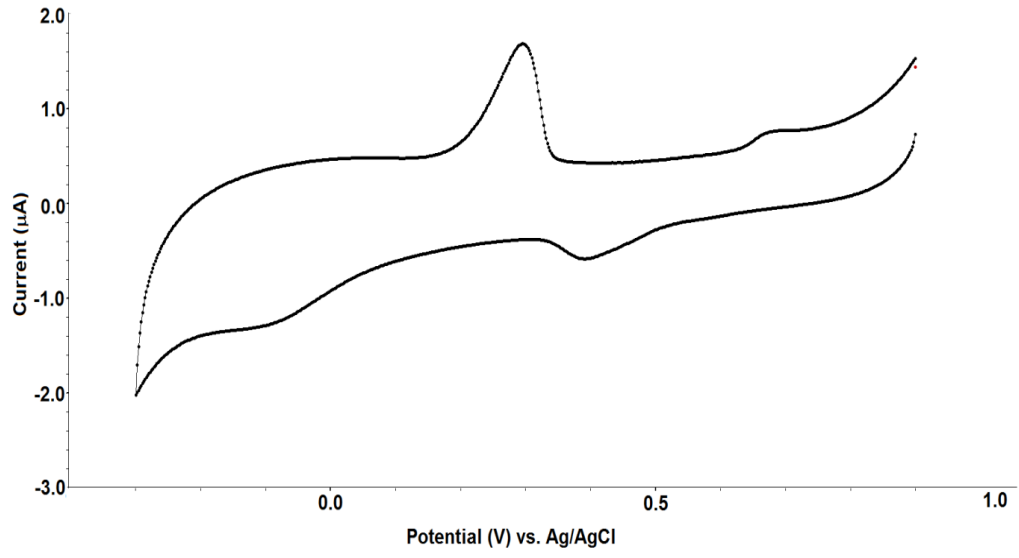


Şekil 3.44. Mn metalini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı

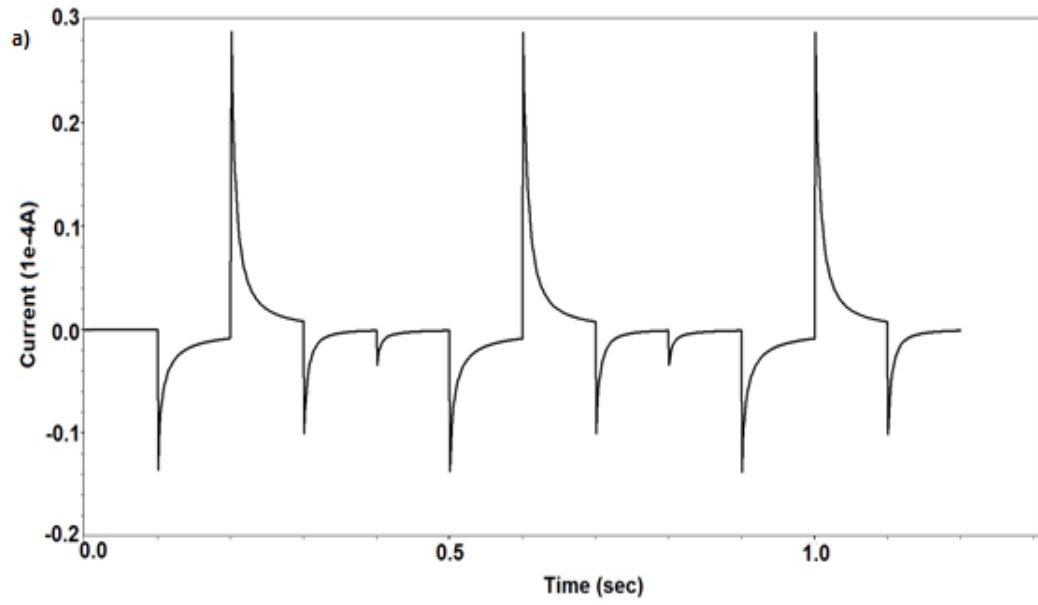


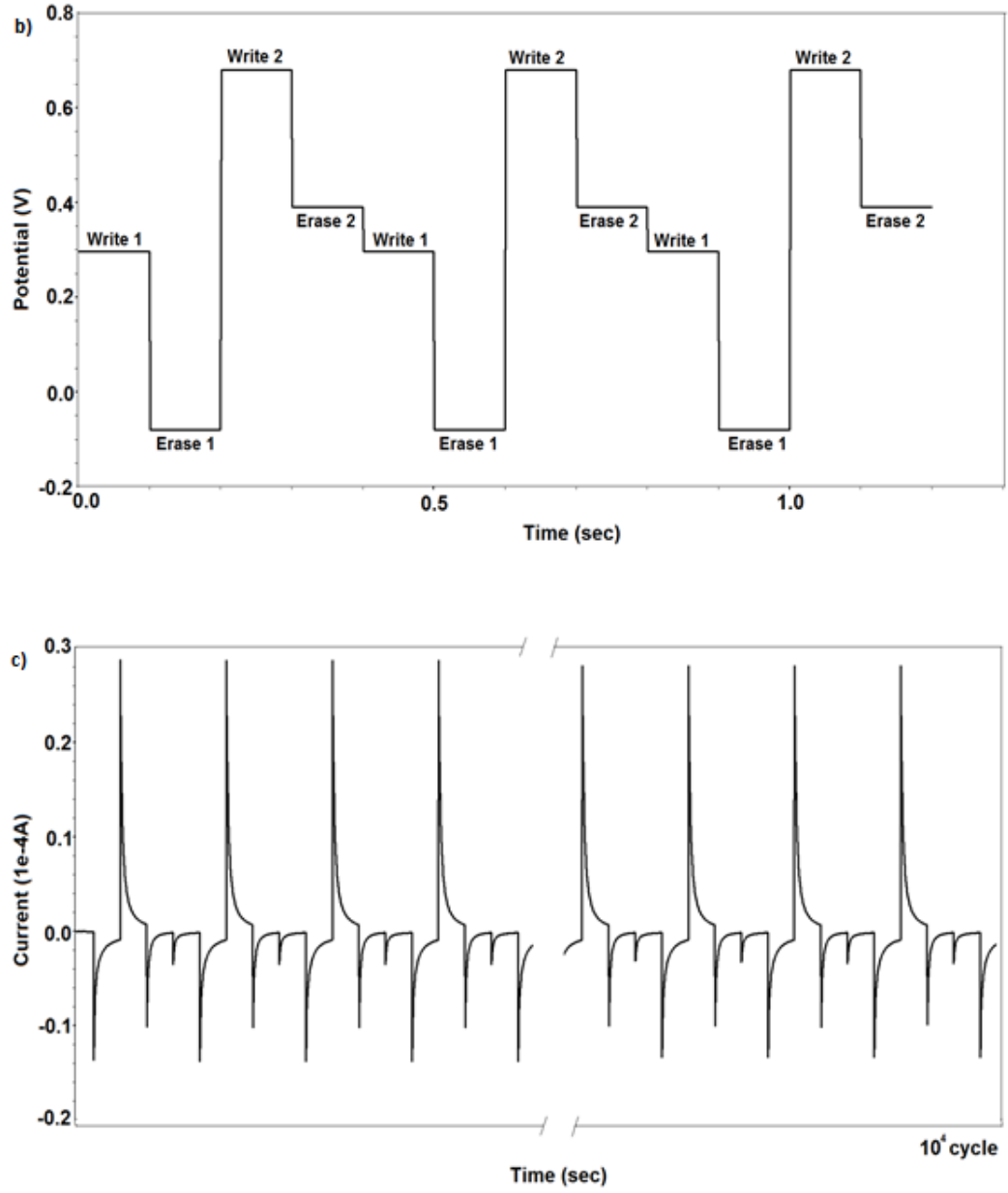


Şekil 3.45. Mn metalini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği, a) Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, b) 120 ms’de akım yüklenerek yapılan ölçümler, c) Belleğin cevap verdiği akımlar

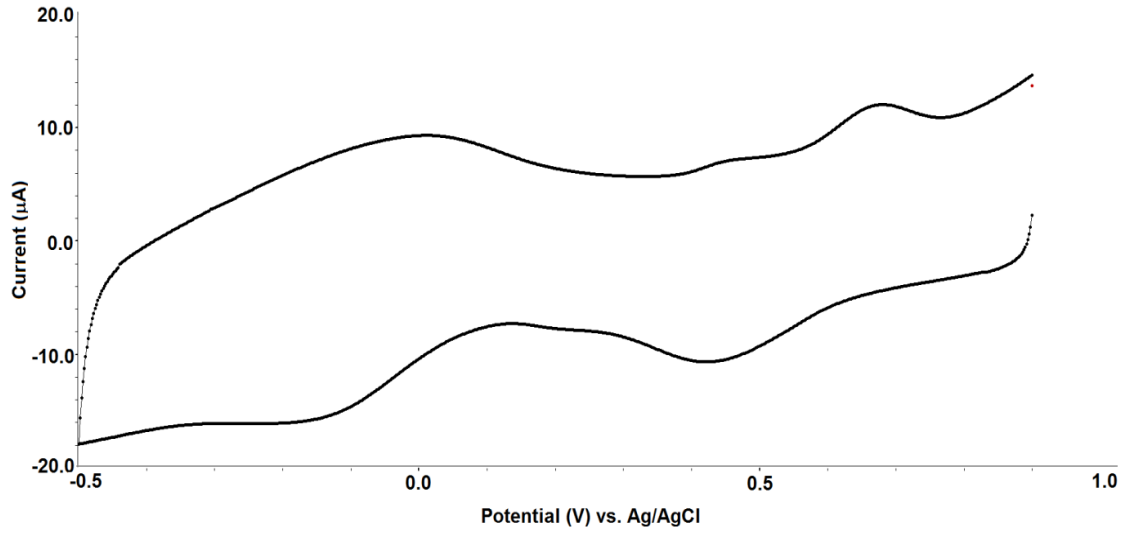


Şekil 3.46. Cu/Ag metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı

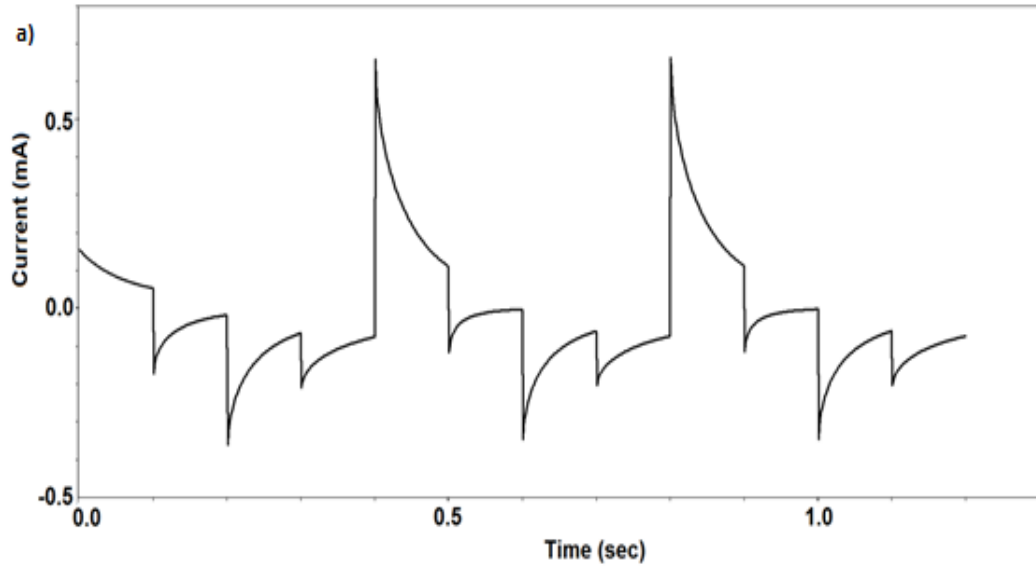


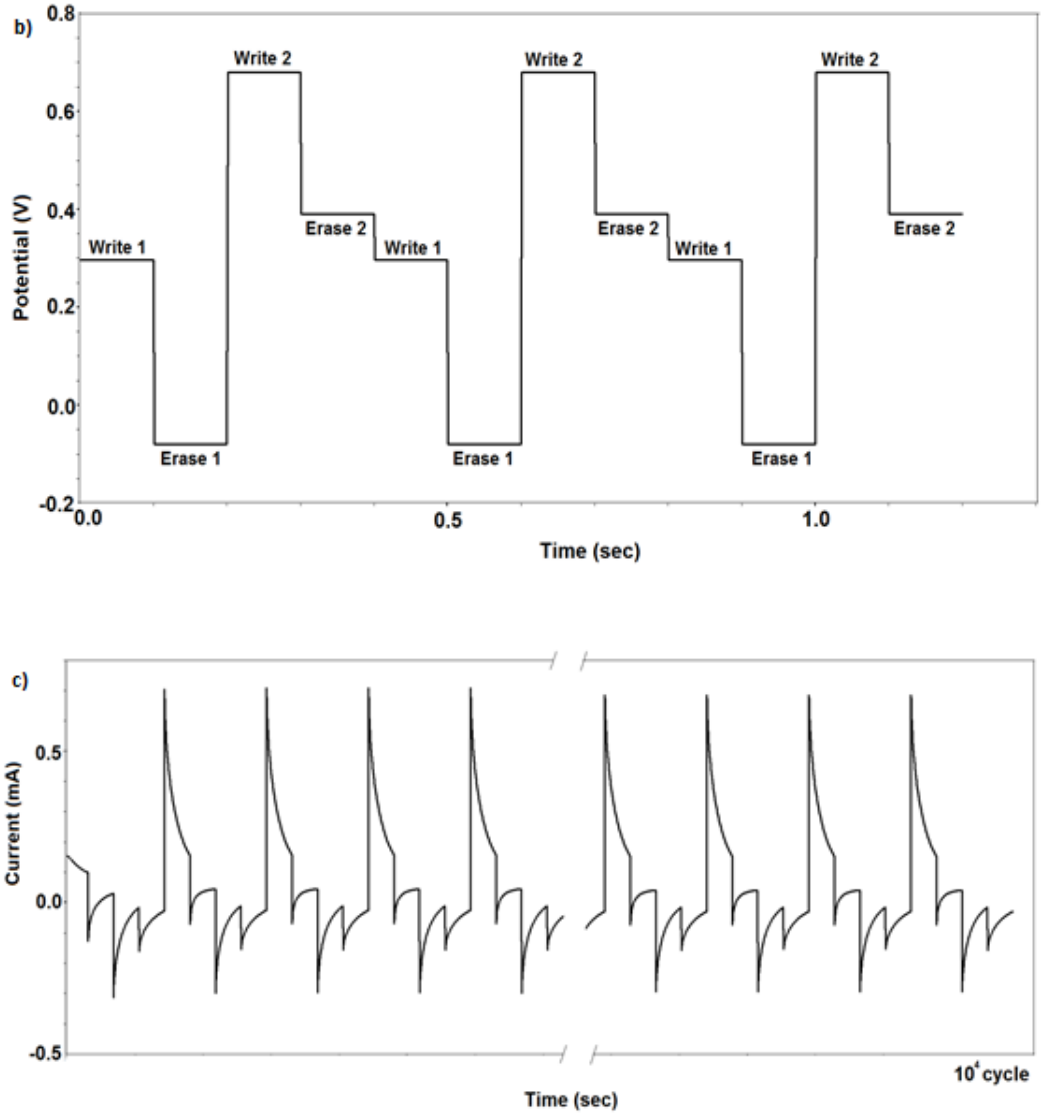


Şekil 3.47. Cu/Ag metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği **a)** Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, **b)** 120 ms’de akım yüklenerek yapılan ölçümler, **c)** Belleğin cevap verdiği akımlar

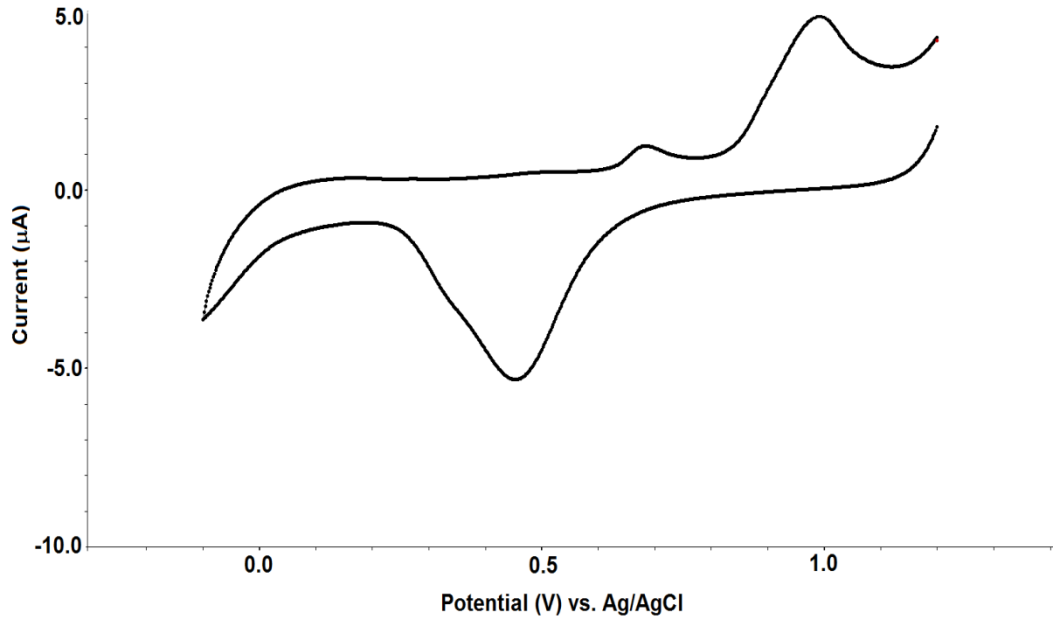


Şekil 3.48. Fe/Mn metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı

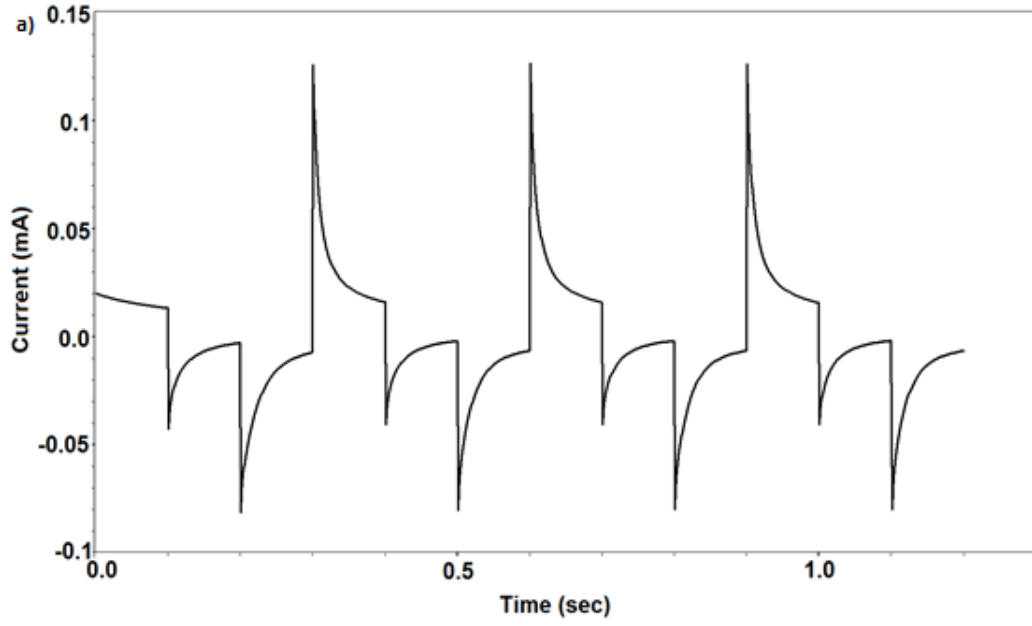


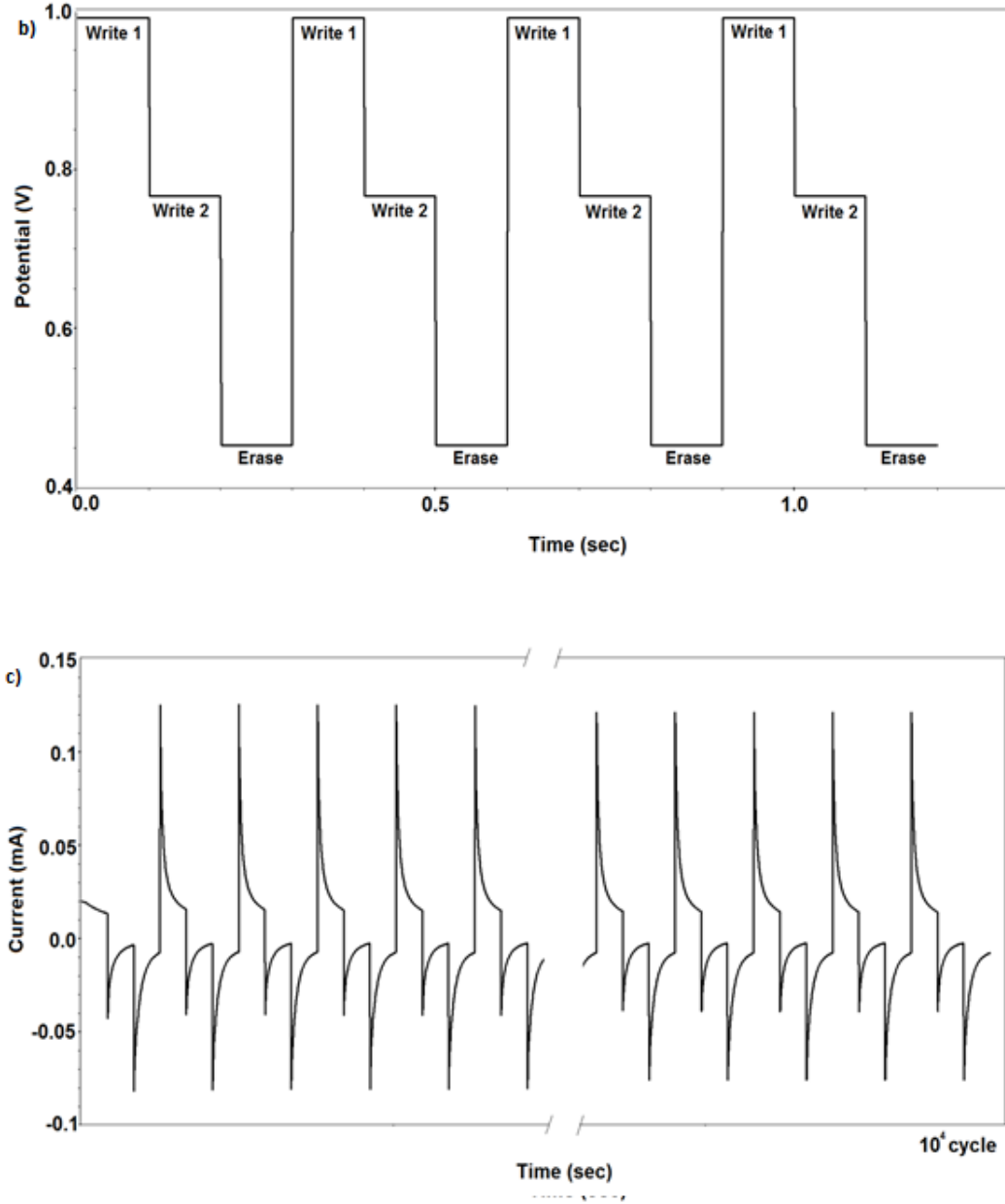


Şekil 3.49. Fe/Mn metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği **a)** Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, **b)** 120 ms’de akım yüklenerek yapılan ölçümler, **c)** Belleğin cevap verdiği akımlar



Şekil 3.50. Ag/Fe/Mn/Cu metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinin 0.1 M fosfat tamponundaki dönüşümlü voltammogramı





Şekil 3.51. Ag/Fe/Mn/Cu metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerinden meydana gelen biyohafıza aygıtındaki hafıza fonksiyonunun karakteristiği **a)** Belleğin periyodik olarak cevap verdiği akımlar, **b)** 120 ms'de akım yüklenerek yapılan ölçümler, **c)** Belleğin cevap verdiği akımlar

4. YORUM VE SONUÇ

Pt metali içeren iki yüzöl nanopartiküllerin ortalama partikül boyut dağılımı 96 nm, Cu metali içeren iki yüzöl nanopartiküllerin ortalama partikül boyut dağılımı 140 nm, Fe/Mn metallerini içeren iki yüzöl nanopartiküllerin ortalama partikül boyut dağılımı 151 nm, Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren iki yüzöl nanopartiküllerin ortalama boyut dağılımı 149 nm olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Biyonanoyapıların en yüksek aktivite gösterdikleri pH değerleri, en yüksek aktivite gösterdikleri sıcaklık değerleri hesaplanan Michaelis-Menten sabitleri ve maksimum reaksiyon hızları

	pH	Sıcaklık	K _M	V _{MAX}
Pt metali içeren nanopartiküller	5	37	1,72 mM	3,45 x 10 ⁻² µmol/dak
Mn metalini içeren nanopartiküller	5	37	1,55 mM	9,56 x 10 ⁻² µmol/dak
Cu metalini içeren nanopartiküller	6	25	1,85 mM	4,18 x 10 ⁻² µmol/dak
Fe metalini içeren nanopartiküller	9	37	2,64 mM	2,65 x 10 ⁻² µmol/dak
Mn/Fe metallerini içeren nanopartiküller	6	45	2,3 mM	3,75 x 10 ⁻² µmol/dak
Pt/Cu metallerini içeren nanopartiküller	4	25	2,38 mM	2,32 x 10 ⁻² µmol/dak
Ag/Mn/Fe/Cu metallerini içeren nanopartiküller	5	37	1,21 mM	4,26 x 10 ⁻² µmol/dak
Pt/Mn/Fe/Cu metallerini içeren nanopartiküller	6	45	1,25 mM	4,63 x 10 ⁻² µmol/dak

Yapılan kinetik çalışmalarda biyonomalzemelerin en yüksek aktivite gösterdikleri pH değerleri, en yüksek aktivite gösterdikleri sıcaklık değerleri, K_M ve V_{max} değerleri **Çizelge 4.1.**'de gösterilmiştir.

Yapılan kinetik çalışmalarda Ag/Mn/Cu/Fe metali içeren nanoyapıların Michaelis Menten sabiti, diğer nanoyapılara kıyasla TMB substratına karşı daha yüksek afinite gösterdiği saptanmıştır.

Kinetik çalışmalarda biyonanoyapıların derişimlerinin artırılmasıyla enzim aktivitelerinin doğrusal olarak arttığı gözlenmiştir.

Grafen yüzeyine immobilize edilen nanoapoferritine ait dönüşümlü voltammogram 0.1 M fosfat tamponunda (pH:7.2) 1.3 ile 0.0 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında alınmıştır. **Şekil 3.38**'de 1.01 V da görülen katodik pik ve 0.485 V da görülen anodik pik (ANADOLUCA yöntemiyle nanopartikül sentezinde kullanılan fotosentetif amino asit monomerinde bulunan Rutenyum metaline ait yükseltgenme-indirgenme potansiyeli) grafen yüzeyinde biyonomalzemedeki yükün doyurulması ve yayılması için kullanılmıştır. **Şekil 3.39**'da yükseltgenme potansiyelinin uygulanması yazma basamağı, indirgenme potansiyeli ise doyurulan yükün silinmesini sağlamıştır.

Grafen yüzeyine immobilize edilen Ag metalini içeren apoferritin nanopartiküllerine ait dönüşümlü voltammogram 0.1 M fosfat tamponunda (pH:7.2) 0.6 ile -0.2 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında alınmıştır. **Şekil 3.40**'da 0.26 V da görülen katodik pik ve 0.0047 V da görülen anodik pik (gümüşe ait yükseltgenme-indirgenme potansiyeli) grafen yüzeyinde biyonomalzemedeki yükün doyurulması ve yayılması için kullanılmıştır. **Şekil 3.41**'de yükseltgenme potansiyelinin uygulanması yazma basamağı, indirgenme potansiyeli ise doyurulan yükün silinmesini sağlamıştır.

Grafen yüzeyine immobilize edilen Cu metalini içeren apoferritin nanopartiküllerine ait dönüşümlü voltammogram 0.1 M fosfat tamponunda (pH:7.2) 1.3 ile 0.3 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında alınmıştır. **Şekil 3.42**'de 1.1 V da görülen katodik pik ve 0.65 V da görülen anodik pik (bakıra ait yükseltgenme-indirgenme potansiyeli) grafen yüzeyinde biyonomalzemenin yükün doyurulması ve yayılması için kullanılmıştır. **Şekil**

3.43'de yükseltgenme potansiyelinin uygulanması yazma basamağı, indirgenme potansiyeli ise doyurulan yükün silinmesini sağlamıştır.

Grafen yüzeyine immobilize edilen Mn metalini içeren apoferritin nanopartiküllerine ait dönüşümlü voltammogram 0.1 M fosfat tamponunda (pH:7.2) 1.3 ile 0.2 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında alınmıştır. **Şekil 3.44'**de 0.99 V da görülen katodik pik ve 0.51 V da görülen anodik pik (mangana ait yükseltgenme-indirgenme potansiyeli) grafen yüzeyinde biyonomalzemedeki yükün doyurulması ve yayılması için kullanılmıştır. **Şekil 3.45'**de yükseltgenme potansiyelinin uygulanması yazma basamağı, indirgenme potansiyeli ise doyurulan yükün silinmesini sağlamıştır.

Grafen yüzeyine immobilize edilen Ag/Cu metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerine ait dönüşümlü voltammogram 0.1 M fosfat tamponunda (pH:7.2) 0.9 ile -0.3 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında alınmıştır. **Şekil 3.46'**da 0.68 V da görülen katodik pik ve 0.39 V da görülen anodik pik (bakıra ait yükseltgenme-indirgenme potansiyeli) ve 0.297 V da görülen katodik pik ve -0.08 V da görülen anodik pik (gümüşe ait yükseltgenme-indirgenme potansiyeli) grafen yüzeyinde biyonomalzemedeki yükün doyurulması ve yayılması için kullanılmıştır. **Şekil 3.47'**de yükseltgenme potansiyelinin uygulanması yazma basamağı, indirgenme potansiyeli ise doyurulan yükün silinmesini sağlamıştır.

Grafen yüzeyine immobilize edilen Mn/Fe metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerine ait dönüşümlü voltammogram 0.1 M fosfat tamponunda (pH:7.2) 0.9 ile -0.5 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında alınmıştır. **Şekil 3.48'**de 0.68 V da görülen katodik pik ve 0.42 V da görülen anodik pik (mangana ait yükseltgenme-indirgenme potansiyeli) ve 0.012 V da görülen katodik pik ve -0.156 V da görülen anodik pik (demire ait yükseltgenme-indirgenme potansiyeli) grafen yüzeyinde biyonomalzemedeki yükün doyurulması ve yayılması için kullanılmıştır. **Şekil 3.49'**da yükseltgenme potansiyelinin uygulanması yazma basamağı, indirgenme potansiyeli ise doyurulan yükün silinmesini sağlamıştır.

Grafen yüzeyine immobilize edilen Ag/Fe/Mn/Cu metallerini içeren apoferritin nanopartiküllerine ait dönüşümlü voltammogram 0.1 M fosfat tamponunda (pH:7.2) 1.2 ile -0.1 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında alınmıştır. **Şekil 3.50**'de 0.99 V da görülen katodik pik (bakıra ait yükseltgenme potansiyeli) ve 0.76 V da görülen katodik pik (mangana ait yükseltgenme potansiyeli) ve 0.45 V da görülen anodik pik (bakır ve mangana ait indirgenme potansiyeli) grafen yüzeyinde biyonomalzemedeki yükün doyurulması ve yayılması için kullanılmıştır. Karışımında yalnız Cu ve Mn'nin yükseltgenme piki görüldü. Her iki metalin indirgenme bölgesi yakın olduğundan indirgenme piki örtüşmüştür. **Şekil 3.51**'de yükseltgenme potansiyelinin uygulanması yazma basamağı, indirgenme potansiyeli ise doyurulan yükün silinmesini sağlamıştır.

Biyonomalzemelerin redoks özelliği, geliştirilen biohafıza aygıtların hafıza fonksiyonunda rol oynayan dışarıdan uygulanan potansiyelin kontrollü yapılmasıdır. Grafen yüzeyine immobilize edilen biyonomalzemelere ait dönüşümlü voltammogram 0.1 M fosfat tamponunda (pH:7.2) farklı potansiyel aralıklarında 50 mV/s tarama hızında alınmıştır. Yükseltgenme potansiyeli uygulandığı zaman tek tabaka içindeki protein elektron kaybeder, bu nedenle protein filminden elektrodun yüzeyine doğru pozitif yük akışı olur. Protein tabakasının içindeki pozitif yük, hafıza aygıtında bilginin yazılması fonksiyonu olarak çalışır. Yükseltgenme basamağından sonra indirgenme potansiyeli uygulandığı zaman elektrot protein tabakasına elektronu geri verir. Yükseltgenme ve indirgenme potansiyelinin ardışık uygulanması geliştirilen biohafıza aygıtı için yazma ve silme bilgisi sağlar. Geliştirilen biohafıza aygıtının hafıza özelliği, amperometri tekniği kullanılarak yükseltgenme-indirgenme potansiyelinin uygulanmasıyla incelenmiştir. Yükseltgenme potansiyelinin uygulanması yazma basamağı, indirgenme potansiyeli ise doyurulan yükün silinmesini sağlamıştır.

Sonuç olarak sentezlenen biyonomayapıların peroksidaz aktivitesinin yanında indirgenme ve yükseltgenme potansiyelleri dikkate alınarak biyohafıza özelliğine sahip oldukları belirlenmiştir.

5. KAYNAKÇA

- Ajay, K. Y., Taek, L., Junhong, M., & Jeong-Woo, C. (2013). A robust nanoscale biomemory device composed of recombinant azurin on hexagonally packed Au-nano array. *Biosensor and Bioelectronics* 40, 283290.
- Altınışık, M. (1999). *Enzimler*. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-09.pdf>, .
adresinden alınmıştır
- Douglas, T., & Stark, V. (2000). Nanophase cobalt oxyhydroxide mineral synthesized within the protein cage of ferritin. *Inorganic Chemistry* 39, 1828-1830.
- Drexler, K. E. (2004). Nanotechnology: From Feynman to Funding. *Bulletin of Science, Technology and Society* 24.
- Erhardt, R., Boker, A., Zettl, H., Kaya, H., & Pyckhout-Hintzen, W. (2001). *Macromolecules* 4. 1069-1075.
- Fan, J., Yin, J., Ning, B., Wu, X., Hu, Y., Ferrari, M., & Anderson, G. J. (2011). Direct evidence for catalase and peroxidase activities of ferritineplatinum. *Biomaterials* 32, 1611-1618.
- Flenniken, M., Willits, D., Harmsen, A., Liepold, L., Harmsen, A., Young, M., & Douglas, T. (2006). Melanoma and lymphocyte cell-specific targeting incorporated into a heat shock protein cage architecture. *The Journal of Biological Chemistry* 23, 161-170.
- Gu, H., Yang, Z., Gao, J., Chang, C., & Xu, B. (2005). Heterodimers of Nanoparticles: Formation at a Liquid–Liquid Interface and Particle-Specific Surface Modification by Functional Molecules. *Journal of The American Society* 127.
- Harrison, P., & Arosio, P. (1996). Ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochimica Biophysica Acta* 1275, 161-203.
- <http://tr.wikipedia.org/wiki/Nanoteknoloji>. (tarih yok).
- Ichiro, Y., Kenji, I., & Shinya, K. (2010). Ferritin in the field of nanodevices. *Biochimica et Biophysica Acta* 1800, 846-857.

- Junhong, M., Taek, L., Soo-Min, O., Hyunhee, K., & Jeong-Woo, C. (2010). Electrochemical Biomemory Device Consisting of Recombinant Protein Molecules. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 15, 30-39.
- Kuzma, J., & Priest, S. (2010). Nanotechnology, risk, and oversight: learning lessons from related emerging technologies. *Risk Analysis* 30, 1688-1698. www.mvt.ovgu.de/. adresinden alınmıştır
- Lattuadaa, M., & Hattonb, T. A. (2011). Synthesis, properties and applications of Janus nanoparticles. *Nanotoday* 6, 286-308.
- Macara, I. G., Hoy, T. G., & Harrison, P. M. (1973). The Formation of Ferritin from Apoferritin. Catalytic action of apoferritin. *Biochemical Journal* 126, 343-348.
- Melnik, A. V., & Shagalina, O. (2000). *HISTORY OF NANOTECHNOLOGY*.
- Michela, F. M., Hoseinb, H. A., Hausnerc, D. B., & Debnathd, S. (2010). Reactivity of ferritin and the structure of ferritin-derived ferrihydrite. *Biochimica et Biophysica Acta* 1800, 871-885.
- Okuda, M., Iwahori, K., Yamashita, I., & Yoshimura, H. (2003). Fabrication of nickel and chromium nanoparticles using the protein cage of apoferritin. *Biotechnology and Bioengineering* 84, 187-194.
- Perro, A., Reculosa, S., Ravaine, S., Bourgeat, E., & Duguet, E. (2005). Design and synthesis of Janus micro- and nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry*, 3745–3760.
- Pradhan, S., Xu, L., & Chen, S. (2007). *Advanced Functional Materials*.
- Say, R., Emir Diltemiz, S., Çelik, S., & Ersöz, A. (2013). Nanolabel for TNF- α determination. *Applied Surface Science*.
- Say, R., Ersoz, A., Hur, D., Yılmaz, F., Denizli, A., Atılır Özcan, A., . . . Fındık, T. (2011, 06 16). *Patent No. WO/2011/070402* . ABD.
- Say, R., Keçili, R., Biçen, Ö., Yılmaz Şişman, F., Hür, D., Denizli, A., & Ersöz, A. (2011). A novel nanoprotein particle synthesis: Nanolipase. *Process Biochemistry*, 46, 1688–1692.
- Sennuga, A., Marwijk, J., & Whiteley, C. G. (2012). Multiple fold increase in activity of ferroxidase–apoferritin complex by. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 9, 185-193.

- Shan, J., Chen, Q., Tripathy, L., Luitjen, M., Schweizer, E., S., K., & Granick, S. (2010). Janus Particle Synthesis and Assembly. *Advanced Materials* 22, 1060-1071.
- Sun, S., & Chasteen, N. D. (1992). Ferroxidase Kinetics of Horse Spleen Apoferritin. *The Journal of Biological Chemistry*, 25160-25166.
- Şekeroğlu, Z. A. (2013). Nanoteknolojiden nanogenotoksikolojiye: kobalt-krom nanopartiküllerinin genotoksik etkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 70, 33-42.
- Tolochko, N. (2000). History of Nanotechnology. *Nanoscience and Nanotechnologies*.
- Uchida, M., Kanga, S., Reichhardt, C., Harlena, K., & Douglas, T. (2010). The ferritin superfamily: Supramolecular templates for materials synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 834-845.
- Ueno, T., Suzuki, M., Goto, T., Matsumoto, T., Nagayama, K., & Watanabe, Y. (2004). Size-selective olefin hydrogenation by a Pd nanocluster provided in an apo-ferritin cage. *Angewandte Chemie International Edition* 43, 2527-2530.
- Walther, A., & Muller, A. (2008). Janus Particles: Synthesis, Self-Assembly, Physical Properties, and Applications. *Soft Matter* 4, 5194-5261.
- Wu, L., Ross, B., S. Hong, L., & Lee. (2010). *Small*.
- Yabu, H., Koike, K., Motoyoshi, K., Higuchi, T., & Shimomura, M. (2010). *Macromolecular Rapid Communications*.
- Zhao, N., & Gao, M. (2009). *Advanced Materials*.