



**T.C.  
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KUANTUM NOKTA ENTEGRE BİYOSENSÖR  
GELİŞTİRİLEREK ÇİFT SARMAL VE G-  
QUADRUPLEKS DNA TAYİNİNDE  
KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**AYŞE TOPCU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
ANALİTİK KİMYA  
ANA BİLİM DALI**

**SİVAS-2021**

**T.C.  
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KUANTUM NOKTA ENTEGRE BİYSENSÖR  
GELİŞTİRİLEREK ÇİFT SARMAL VE G-  
QUADRUPLEKS DNA TAYİNİNDE  
KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**AYŞE TOPCU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
ANALİTİK KİMYA  
ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
DOÇ. DR. ESRA BAĞDA**

**SİVAS-2021**

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

*Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından Ecz-067 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.*



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Ayşe TOPCU, 2021

## ETİK

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Cumhuriyet Üniversitesi ya da bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

20.01.2020

Ayşe TOPCU

## ÖZET

### KUANTUM NOKTA ENTEGRE BİYOSENSÖR GELİŞTİRİLEREK ÇİFT SARMAL VE G-QUADRUPEKS DNA TAYİNİNDE KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşe Topcu  
Yüksek Lisans Tezi  
Analitik Kimya Ana Bilim Dalı  
Danışman: Doç. Dr. Esra BAĞDA  
2021, 80+xix sayfa

Kuantum noktalar eşsiz fotokimyasal özelliklere sahip nano boyutlu yarı iletken kristallerdir. Fotokimyasal özelliklerinden dolayı biyolojik uygulamalarda tercih edilirler.

G-quadrupleks DNA yapıları, guanince zengin DNA dizilerinde görülen ikincil katlanmalardır. Bu yapıların *in vivo* şartlarda varlığı keşfedilmiş ve metabolizmada görevlerinin belirlenmesi için çeşitli biyolojik ortamlarda nicel tayini önem kazanmıştır.

Mevcut tez çalışmasında, çift sarmal ve G-quadrupleks DNA tayinine yönelik kuantum nokta entegre biyosensör geliştirilmiştir. Geliştirilen biyosensörün çalışma prensibi kuantum noktanın emisyon sinyalinin ftalosiyanin varlığında sönümlenmesi (kapalı konum) ve DNA varlığında ise floresans sinyalin geri kazanılması temeline (açık konum) dayanmaktadır. Tez kapsamında ftalosiyanin türü ve derişimi gibi biyosensör performansını etkileyen parametreler optimize edilmiştir. Geliştirilen biyosensörün biyolojik numunelerde G-quadrupleks ve çift sarmal DNA'nın belirlenmesi hedeflendiğinden biyolojik numunelerde oldukça yaygın bulunan serum albümin ve iyonların ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  gibi) biyosensör performansına etkisi incelenmiştir. Bu çalışmalarda çalışılan iyonların sensör performansına etkisi ( $\text{Zn}^{2+}$  dışında ) ihmal edilebilir seviyede bulunmuştur. Bu çalışmaların ardından biyosensörün lineer aralık, gözlenebilme ve tayin sınırı, kalibrasyon duyarlılığı gibi analitik özellikleri belirlenmiştir. Gözlenebilme ve tayin sınırları **AS1411** için sırası ile 0,055  $\mu\text{M}$  ve 0,18  $\mu\text{M}$ , **Tel21** için sırası ile 0,061  $\mu\text{M}$  ve 0,20  $\mu\text{M}$ , **Tel45** için sırası ile 0,038  $\mu\text{M}$  ve 0,13  $\mu\text{M}$  ve **ctDNA** için ise sırası ile sırası ile 0,091  $\mu\text{M}$  ve 0,30  $\mu\text{M}$ 'dır. Geliştirilen

biyosensörün gerçek örneklere uygulanılabilirliği sentetik örnekler hazırlanarak kontrol edilmiştir.

Sonuç olarak çeşitli ortamlarda G-quadrupleks ve çift sarmal DNA derişiminin belirlenebileceğı kuantum nokta entegre, açık-kapalı özelliğine sahip bir biyosensör geliştirilmiştir. Geliştirilen biyosensör *in vitro* ortamlarda bu türlerin belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Gerçek örnekleri en iyi şekilde temsil etmesi açısından hazırlanan sentetik numuneler kalabalıklaştırma ajanı (PEG 8000), protein, ve çeşitli iyonları içerecek şekilde hazırlanmıştır ve bu ortamlarda çalışılan G- quadrupleks ve **ctDNA** derişimleri yüksek doğrulukla tayin edilebilinmiştir.

Elde edilen sonuçlar ışığında geliştirilen biyosensörle *in vivo* şartlarda da G-quadrupleks ve çift sarmal DNA türlerinin belirlenmesi potansiyelinin olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kuantum nokta, Biyosensör, **ctDNA**, G-quadrupleks DNA

## ABSTRACT

### DEVELOPMENT OF INTEGRATED QUANTUM DOT BIOSENSORS AND APPLICABILITY OF DETECTION OF DOUBLE STRANDED DNA AND G-QUADRUPLEX DNA

Ayşe Topcu  
Master of Science Thesis  
Department of Analytical Chemistry  
Supervisor: Ass. Prof. Esra BAĞDA  
2021, 80+xix pages

Quantum dots are nano-sized semiconductor crystals with unique photochemical properties. They are preferred in biological applications due to their photochemical properties.

G-quadruplex DNA structures are secondary folds found in guanine-rich DNA sequences. The existence of these structures in *in vivo* conditions has been discovered and their quantitative determination in various biological environments has gained importance in order to determine their roles in metabolism.

In the present thesis, a quantum dot integrated biosensor for double helix and G-quadruplex DNA determination has been developed. The working principle of the developed biosensor is based on the quenching of the emission signal of the quantum dot in the presence of phthalocyanine (closed position) and the recovery of the fluorescence signal in the presence of DNA (open position). Within the scope of the thesis, parameters affecting biosensor performance such as phthalocyanine type and concentration were optimized. Since the developed biosensor aimed to determine G-quadruplex and double helix DNA in biological samples, the effect of serum albumin and ions (such as  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), which are quite common in biological samples, on the biosensor performance was examined. The effect of ions studied (except  $\text{Zn}^{2+}$ ) on biosensor performance in these studies was found to be negligible. After these studies, the analytical properties of the biosensor such as linear range, limit of detection and quantification, calibration sensitivity were determined. The limit of detection and quantification were 0,055  $\mu\text{M}$  and 0,18  $\mu\text{M}$  for **AS1411**, 0,061  $\mu\text{M}$  and 0,20  $\mu\text{M}$  for **Tel21**, 0,038  $\mu\text{M}$  and 0,13  $\mu\text{M}$  for **Tel45** and 0,091  $\mu\text{M}$  and 0,30  $\mu\text{M}$  for **ctDNA**. The

applicability of the developed biosensor to real samples was checked by preparing synthetic samples.

The results of this investigation show that, a quantum dot integrated, on-off biosensor has been developed in which the G-quadruplex and double helix DNA concentration can be determined in various environments. The biosensor developed within the scope of the thesis enables the identification of these species in *in vitro* environments. Synthetic samples prepared to represent real samples in the best way were prepared to contain molecular crowding agent (PEG 8000), protein, and various ions, and the G-quadruplex and **ctDNA** concentrations studied in these environments could be determined with high accuracy.

Based on the results obtained, it is thought that the developed biosensor has the potential for the determination of G-quadruplex and double helix DNA species *in vivo*.

**Keywords:** Quantum dot, Biosensor, **ctDNA**, G-quadruplex DNA

# İÇİNDEKİLER

|                                                                                 |       |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------|
| İÇ KAPAK.....                                                                   | i     |
| ONAY.....                                                                       | ii    |
| YÖNERGE .....                                                                   | iii   |
| KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR.....                                                 | vi    |
| ÖZET .....                                                                      | vii   |
| ABSTRACT.....                                                                   | ix    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                               | xi    |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                            | xiii  |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                           | xvi   |
| KISALTMALAR/SİMGELER.....                                                       | xviii |
| 1. GİRİŞ.....                                                                   | 1     |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                                          | 3     |
| 2.1. Kuantum Noktalar .....                                                     | 3     |
| 2.1.1. Kuantum Noktalar ve Genel Özellikleri.....                               | 3     |
| 2.1.2. Kuantum Noktaların İlaç Salınımında ve Kanser Tedavisinde Kullanımı..... | 6     |
| 2.1.3. Kuantum Noktaların Görüntüleme Tekniklerinde Kullanımı .....             | 8     |
| 2.1.4. G-quadrupleks DNA.....                                                   | 9     |
| 2.1.4.1. Guanin Tetratları ve G-quadrupleks Yapıları .....                      | 9     |
| 2.1.4.2. G -dörtlü Topolojisi ve Telomerik DNA'lar .....                        | 11    |
| 2.1.4.3. G-dörtlülerin Önemi .....                                              | 13    |
| 2.1.5. Ftalosiyaninler .....                                                    | 13    |
| 2.1.5.1. Ftalosiyaninlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....               | 14    |
| 2.1.5.2. Ftalosiyanin-İlaç Konjugatları .....                                   | 15    |
| 2.1.5.3. Ftalosiyaninlerin Agregasyon Özellikleri.....                          | 16    |
| 2.1.5.4. Ftalosiyaninlerin Kullanım Alanları .....                              | 17    |
| 2.1.6. Biyosensörler.....                                                       | 17    |
| 2.1.6.1. Biyosensörler ve Özellikleri .....                                     | 17    |
| 2.1.6.2. Biyosensörlerin Sınıflandırılması .....                                | 19    |
| 2.1.6.3. Floresans Biyosensörler.....                                           | 20    |
| 2.1.6.4. Biyosensörlerin Uygulama Alanları .....                                | 21    |

|                                                                                                                            |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                                                                             | <b>22</b> |
| 3.1. Kuantum Nokta Sentezi .....                                                                                           | 22        |
| 3.2. AS1411, Tel21 ve Tel45 Oligonükleotid Çözeltilerinin Hazırlanması.....                                                | 22        |
| 3.3. Ftalosiyanin Çözeltilerinin Hazırlanması.....                                                                         | 23        |
| 3.4. Uygun Ftalosiyanin Bileşiğinin Seçimi .....                                                                           | 23        |
| 3.5. Fs-DNA Etkileşimi İçin Bağlanma Sabitlerinin Hesaplanması .....                                                       | 23        |
| 3.6. Bağlanma Stokiyometrisinin Hesaplanması .....                                                                         | 23        |
| 3.7. Fs Miktarının Optimizasyonu .....                                                                                     | 24        |
| 3.8. Geliştirilen Biyosensör Sinyaline Girişimcilerin Etkisi.....                                                          | 24        |
| 3.9. Biyosensörün Analitik Özellikleri .....                                                                               | 24        |
| 3.10. Sentetik Biyolojik Ortamlarda Geliştirilen Biyosensörün Uygulaması.....                                              | 25        |
| <b>4. BULGULAR.....</b>                                                                                                    | <b>26</b> |
| 4.1. Kuantum Nokta Ftalosiyanin Seçimi .....                                                                               | 27        |
| 4.2. Job's Yöntemi ile G-quadrupleks DNA Yapılarının Ftalosiyanin ile Etkileşimine Dair Stokiyometrilere Belirlenmesi..... | 32        |
| 4.3. Sönümleme Çalışmaları .....                                                                                           | 34        |
| 4.4. Girişim Çalışmaları .....                                                                                             | 37        |
| 4.4.1. Biyosensör Performansına Kalsiyum İyonunun Etkisi .....                                                             | 38        |
| 4.4.2. Biyosensör Performansına Magnezyum İyonunun Etkisi .....                                                            | 43        |
| 4.4.3. Biyosensör Performansına Sodyum İyonunun Etkisi.....                                                                | 47        |
| 4.4.4. Biyosensör Performansına Çinko İyonunun Etkisi .....                                                                | 52        |
| 4.4.5. Biyosensör Performansına Serum Proteini Etkisi .....                                                                | 56        |
| 4.5. Analitik Performans Özellikleri .....                                                                                 | 61        |
| 4.6. Sentetik Örnekler Üzerinde Uygulama .....                                                                             | 65        |
| <b>5. DEĞERLENDİRME VE SONUÇ.....</b>                                                                                      | <b>72</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                                                                     | <b>73</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                                                                                      | <b>80</b> |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1  | Kuantum nanokristalin yarıiletken kristal çekirdek-kabuk şeması .....                                                                                                                                                                                                                             | 3  |
| Şekil 2.2  | Kuantum noktaların enerji seviyeleri, değerlik bandı, iletkenlik bandı ve bant boşluğunun gösterim şeması .....                                                                                                                                                                                   | 4  |
| Şekil 2.3  | a) KN'nin bileşimi sabit tutulurken nanopartikül boyutunu değiştirerek görünür bölge boyunca yayılacak şekilde ayarlanabilir olması şeması b) KN'nin boyutu sabit iken, bileşim değiştirilerek emisyon dalga boyunu ayarlamak için kullanılabilir olması şeması .....                             | 5  |
| Şekil 2.4  | 5 nm yarıçaplı çekirdek yapısına sahip bir partikül yüzeyinde farklı hidrofobik ligand moleküllerinin gösterim şeması.....                                                                                                                                                                        | 6  |
| Şekil 2.5  | Guanin molekülü ve guanin tetratinin kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                                                                                                        | 10 |
| Şekil 2.6  | G-quadrupleks yapısı ve merkezi boşluk. M +, tek değerlikli bir katyonu belirtir .....                                                                                                                                                                                                            | 11 |
| Şekil 2.7  | a) Bir G-dörtlüsünün yapısı ve şematik gösterimi. b) Paralel antiparalel ve hibrit tip tarafından oluşturulan tipik intramoleküler G-dörtlü DNA yapıları ve şematik gösterimleri .....                                                                                                            | 12 |
| Şekil 2.8  | Molekül içi (sol) ve moleküller arası (sağ) olarak düzenlenmiş farklı G-quadrupleks topolojilerinin şeması.....                                                                                                                                                                                   | 12 |
| Şekil 2.9  | a) Metallsiz ftalosiyanın (H <sub>2</sub> Fs), b) Metalli ftalosiyanın (MFs) bileşikleri.....                                                                                                                                                                                                     | 14 |
| Şekil 2.10 | Metalli ftalosiyanınların kristal yapılarının şeması. ....                                                                                                                                                                                                                                        | 15 |
| Şekil 2.11 | a) Agregasyona uğramamış ftalosiyanın b) agregasyona uğramış ftalosiyanın şeması .....                                                                                                                                                                                                            | 16 |
| Şekil 2.12 | Biyosensör bileşenlerinin şeması .....                                                                                                                                                                                                                                                            | 18 |
| Şekil 2.13 | Bir biyosensörün çalışması şeması.....                                                                                                                                                                                                                                                            | 19 |
| Şekil 2.14 | Biyosensörün sınıflandırılması şeması.....                                                                                                                                                                                                                                                        | 20 |
| Şekil 4.1  | Kuantum nokta-ftalosiyanın entegre biyosensör çalışma prensibi.....                                                                                                                                                                                                                               | 26 |
| Şekil 4.2  | (a) Fs <sub>1</sub> bileşiği, (b) CdTe-mpa kuantum noktanın Fs <sub>1</sub> varlığında sönümlenmesi ve sinyal geri kazanımı, (c) eklenen AS1411 sinyal bağlı geri kazanımı, (d) Fs <sub>1</sub> bileşiğinin absorpsiyon spektrumu ve CdTe-mpa'nın emisyon spektrumu ( $\lambda_{ex}$ 290 nm)..... | 28 |
| Şekil 4.3  | (a) Fs <sub>2</sub> bileşiği, (b) CdTe-mpa kuantum noktanın Fs <sub>2</sub> varlığında sönümlenmesi ve sinyal geri kazanımı, (c) eklenen AS1411 sinyal bağlı geri kazanımı, (d) Fs <sub>2</sub> bileşiğinin absorpsiyon spektrumu ve CdTe-mpa'nın emisyon spektrumu ( $\lambda_{ex}$ 290 nm)..... | 29 |
| Şekil 4.4  | (a) Fs <sub>3</sub> bileşiği, (b) CdTe-mpa kuantum noktanın Fs <sub>3</sub> varlığında sönümlenmesi ve sinyal geri kazanımı, (c) eklenen AS1411 sinyal bağlı geri kazanımı, (d) Fs <sub>3</sub> bileşiğinin absorpsiyon spektrumu ve CdTe-mpa'nın emisyon spektrumu ( $\lambda_{ex}$ 290 nm)..... | 30 |
| Şekil 4.5  | (a) Fs <sub>4</sub> bileşiği, (b) CdTe-mpa kuantum noktanın Fs <sub>4</sub> varlığında sönümlenmesi ve sinyal geri kazanımı, (c) eklenen AS1411 sinyal bağlı geri kazanımı, (d) Fs <sub>4</sub> bileşiğinin absorpsiyon spektrumu ve CdTe-mpa'nın emisyon spektrumu ( $\lambda_{ex}$ 290 nm)..... | 31 |
| Şekil 4.6  | Ön denemelerde araştırılan ftalosiyanın bileşiklerinin çalışılan DNA türleri ile deneysel şartlarda bağlanma sabitleri. ....                                                                                                                                                                      | 32 |
| Şekil 4.7  | AS1411 ile Fs bileşiğinin etkileşimine dair Job's yöntemi.....                                                                                                                                                                                                                                    | 33 |
| Şekil 4.8  | Tel21 ile Fs bileşiğinin etkileşimine dair Job's yöntemi .....                                                                                                                                                                                                                                    | 33 |

|                   |                                                                                                                                                                                                                 |           |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Şekil 4.9</b>  | <b>Tel45 ile Fs bileşiğinin etkileşimine dair Job's yöntemi .....</b>                                                                                                                                           | <b>34</b> |
| <b>Şekil 4.10</b> | <b>CdTe-MPA floresans şiddetinin Fs1 ile sönümlenmesi.....</b>                                                                                                                                                  | <b>34</b> |
| <b>Şekil 4.11</b> | <b>Farklı Fs1 derişimlerinde As1411 ie sinyal kazanımı.....</b>                                                                                                                                                 | <b>36</b> |
| <b>Şekil 4.12</b> | <b>Farklı Fs1 derişimlerinde Tel21 ile sinyal kazanımı.....</b>                                                                                                                                                 | <b>36</b> |
| <b>Şekil 4.13</b> | <b>Farklı Fs1 derişimlerinde Tel45 ile sinyal kazanımı.....</b>                                                                                                                                                 | <b>37</b> |
| <b>Şekil 4.14</b> | <b>Farklı Fs1 derişimlerinde ctDNA ile sinyal kazanımı .....</b>                                                                                                                                                | <b>37</b> |
| <b>Şekil 4.15</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline AS1411 etkisi, (b) KN-Fs+AS1411 sistem sinyaline Ca etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Ca etkisi, (d) KN-Fs+ Ca sistem sinyaline AS1411 etkisi .....</b>  | <b>39</b> |
| <b>Şekil 4.16</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Tel21 etkisi, (b) KN-Fs+ Tel21 sistem sinyaline Ca etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Ca etkisi, (d) KN-Fs+ Ca sistem sinyaline Tel21 etkisi.....</b>     | <b>40</b> |
| <b>Şekil 4.17</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Tel45 etkisi, (b) KN-Fs+ Tel45 sistem sinyaline Ca etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Ca etkisi, (d) KN-Fs+ Ca sistem sinyaline Tel45 etkisi.....</b>     | <b>41</b> |
| <b>Şekil 4.18</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline ctDNA etkisi, (b) KN-Fs+ ctDNA sistem sinyaline Ca etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Ca etkisi, (d) KN-Fs+ Ca sistem sinyaline ctDNA etkisi.....</b>     | <b>42</b> |
| <b>Şekil 4.19</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline AS1411 etkisi, (b) KN-Fs+ AS1411 sistem sinyaline Mg etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Mg etkisi, (d) KN-Fs+ Mg sistem sinyaline AS1411 etkisi. ....</b> | <b>43</b> |
| <b>Şekil 4.20</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Tel21 etkisi, (b) KN-Fs+ Tel21 sistem sinyaline Mg etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Mg etkisi, (d) KN-Fs+ Mg sistem sinyaline Tel21 etkisi.....</b>     | <b>44</b> |
| <b>Şekil 4.21</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Tel45 etkisi, (b) KN-Fs+ Tel45 sistem sinyaline Mg etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Mg etkisi, (d) KN-Fs+ Mg sistem sinyaline Tel45 etkisi.....</b>     | <b>45</b> |
| <b>Şekil 4.22</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline ctDNA etkisi, (b) KN-Fs+ ctDNA sistem sinyaline Mg etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Mg etkisi, (d) KN-Fs+ Mg sistem sinyaline ctDNA etkisi. ....</b>    | <b>46</b> |
| <b>Şekil 4.23</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline AS1411 etkisi, (b) KN-Fs+ AS1411 sistem sinyaline Na etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Na etkisi, (d) KN-Fs+ Na sistem sinyaline AS1411 etkisi.....</b>  | <b>48</b> |
| <b>Şekil 4.24</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Tel21 etkisi, (b) KN-Fs+ Tel21 sistem sinyaline Na etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Na etkisi, (d) KN-Fs+ Na sistem sinyaline Tel21 etkisi. ....</b>    | <b>49</b> |
| <b>Şekil 4.25</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Tel45 etkisi, (b) KN-Fs+ Tel45 sistem sinyaline Na etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Na etkisi, (d) KN-Fs+ Na sistem sinyaline Tel45 etkisi. ....</b>    | <b>50</b> |
| <b>Şekil 4.26</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline ctDNA etkisi, (b) KN-Fs+ ctDNA sistem sinyaline Na etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Na etkisi, (d) KN-Fs+ Na sistem sinyaline ctDNA etkisi.....</b>     | <b>51</b> |
| <b>Şekil 4.27</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline AS1411 etkisi, (b) KN-Fs+ AS1411 sistem sinyaline Zn etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Zn etkisi, (d) KN-Fs+ Zn sistem sinyaline AS1411 etkisi. ....</b> | <b>53</b> |
| <b>Şekil 4.28</b> | <b>(a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Tel21 etkisi, (b) KN-Fs+ Tel21 sistem sinyaline Zn etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Zn etkisi, (d) KN-Fs+ Zn sistem sinyaline Tel21 etkisi.....</b>     | <b>54</b> |

|                   |                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 4.29</b> | <b>(a)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline <b>Tel45</b> etkisi, <b>(b)</b> KN-Fs+ <b>Tel45</b> sistem sinyaline Zn etkisi, <b>(c)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Zn etkisi, <b>(d)</b> KN-Fs+ Zn sistem sinyaline <b>Tel45</b> etkisi.....    | 55 |
| <b>Şekil 4.30</b> | <b>(a)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline <b>ctDNA</b> etkisi, <b>(b)</b> KN-Fs+ <b>ctDNA</b> sistem sinyaline Zn etkisi, <b>(c)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Zn etkisi, <b>(d)</b> KN-Fs+ Zn sistem sinyaline <b>ctDNA</b> etkisi.....    | 56 |
| <b>Şekil 4.31</b> | <b>(a)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline <b>AS1411</b> etkisi, <b>(b)</b> KN-Fs+ <b>AS1411</b> sistem sinyaline BSA etkisi, <b>(c)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline BSA etkisi, <b>(d)</b> KN-Fs+BSA sistem sinyaline <b>AS1411</b> etkisi.   | 57 |
| <b>Şekil 4.32</b> | <b>(a)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline <b>Tel21</b> etkisi, <b>(b)</b> KN-Fs+ <b>Tel21</b> sistem sinyaline BSA etkisi, <b>(c)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline BSA etkisi, <b>(d)</b> KN-Fs+BSA sistem sinyaline <b>Tel21</b> etkisi ..... | 58 |
| <b>Şekil 4.33</b> | <b>(a)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline <b>Tel45</b> etkisi, <b>(b)</b> KN-Fs+ <b>Tel45</b> sistem sinyaline BSA etkisi, <b>(c)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline BSA etkisi, <b>(d)</b> KN-Fs+BSA sistem sinyaline <b>Tel45</b> etkisi ..... | 59 |
| <b>Şekil 4.34</b> | <b>(a)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline <b>ctDNA</b> etkisi, <b>(b)</b> KN-Fs+ <b>ctDNA</b> sistem sinyaline BSA etkisi, <b>(c)</b> KN-Fs entegre biyosensör sinyaline BSA etkisi, <b>(d)</b> KN-Fs+BSA sistem sinyaline <b>ctDNA</b> etkisi..     | 61 |
| <b>Şekil 4.35</b> | Geliştirilen biyosensörün AS1411 için kalibrasyon doğrusu .....                                                                                                                                                                                          | 62 |
| <b>Şekil 4.36</b> | Geliştirilen biyosensörün Tel21 için kalibrasyon doğrusu.....                                                                                                                                                                                            | 63 |
| <b>Şekil 4.37</b> | Geliştirilen biyosensörün Tel45 için kalibrasyon doğrusu.....                                                                                                                                                                                            | 64 |
| <b>Şekil 4.38</b> | Geliştirilen biyosensörün ctDNA için kalibrasyon doğrusu.....                                                                                                                                                                                            | 65 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 4.1</b> $\text{Ca}^{2+}$ iyonlarının <b>AS1411</b> belirlenmesine etkisi .....                       | 39 |
| <b>Tablo 4.2</b> $\text{Ca}^{2+}$ iyonlarının <b>Tel21</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 40 |
| <b>Tablo 4.3</b> $\text{Ca}^{2+}$ iyonlarının <b>Tel45</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 41 |
| <b>Tablo 4.4</b> $\text{Ca}^{2+}$ iyonlarının <b>ctDNA</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 42 |
| <b>Tablo 4.5</b> $\text{Mg}^{2+}$ iyonlarının <b>AS1411</b> belirlenmesine etkisi .....                       | 43 |
| <b>Tablo 4.6</b> $\text{Mg}^{2+}$ iyonlarının <b>Tel21</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 44 |
| <b>Tablo 4.7</b> $\text{Mg}^{2+}$ iyonlarının <b>Tel45</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 45 |
| <b>Tablo 4.8</b> $\text{Mg}^{2+}$ iyonlarının <b>ctDNA</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 46 |
| <b>Tablo 4.9</b> $\text{Na}^{+}$ iyonlarının <b>As1411</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 47 |
| <b>Tablo 4.10</b> $\text{Na}^{+}$ iyonlarının <b>Tel21</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 49 |
| <b>Tablo 4.11</b> $\text{Na}^{+}$ iyonlarının <b>Tel45</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 50 |
| <b>Tablo 4.12</b> $\text{Na}^{+}$ iyonlarının <b>ctDNA</b> belirlenmesine etkisi .....                        | 51 |
| <b>Tablo 4.13</b> $\text{Zn}^{2+}$ iyonlarının <b>As1411</b> belirlenmesine etkisi .....                      | 52 |
| <b>Tablo 4.14</b> $\text{Zn}^{2+}$ iyonlarının <b>Tel21</b> belirlenmesine etkisi .....                       | 53 |
| <b>Tablo 4.15</b> $\text{Zn}^{2+}$ iyonlarının <b>Tel45</b> belirlenmesine etkisi .....                       | 54 |
| <b>Tablo 4.16</b> $\text{Zn}^{2+}$ iyonlarının <b>ctDNA</b> belirlenmesine etkisi .....                       | 55 |
| <b>Tablo 4.17</b> BSA'nın <b>AS1411</b> belirlenmesine etkisi .....                                           | 57 |
| <b>Tablo 4.18</b> BSA'nın <b>Tel21</b> belirlenmesine etkisi .....                                            | 58 |
| <b>Tablo 4.19</b> BSA'nın <b>Tel45</b> belirlenmesine etkisi .....                                            | 59 |
| <b>Tablo 4.20</b> BSA'nın <b>ctDNA</b> belirlenmesine etkisi .....                                            | 60 |
| <b>Tablo 4.21</b> Geliştirilen biyosensörün <b>AS1411</b> belirlenmesine yönelik performans özellikleri ..... | 62 |
| <b>Tablo 4.22</b> Geliştirilen biyosensörün <b>Tel21</b> belirlenmesine yönelik performans özellikleri .....  | 63 |
| <b>Tablo 4.23</b> Geliştirilen biyosensörün <b>Tel45</b> belirlenmesine yönelik performans özellikleri .....  | 64 |
| <b>Tablo 4.24</b> Geliştirilen biyosensörün <b>ctDNA</b> belirlenmesine yönelik performans özellikleri .....  | 65 |
| <b>Tablo 4.25</b> Geliştirilen biyosensör ile sentetik örneklerde <b>AS1411</b> tayini .....                  | 67 |
| <b>Tablo 4.26</b> Geliştirilen biyosensör ile sentetik örneklerde <b>Tel21</b> tayini .....                   | 68 |

|                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 4.27</b> Geliştirilen biyosensör ile sentetik örneklerde <b>Tel45</b> tayini.....                           | 69 |
| <b>Tablo 4.28</b> Geliştirilen biyosensör ile sentetik örneklerde <b>ctDNA</b> tayini.....                           | 70 |
| <b>Tablo 4.29</b> Geliştirilen biyosensör ile sentetik hücre içi örneklerinde (memeli hücre ortamı) DNA tayini ..... | 71 |



## KISALTMALAR/SİMGELER

### KISALTMALAR

|                        |                                                |
|------------------------|------------------------------------------------|
| <b>KN</b>              | Kuantum Nokta                                  |
| <b>MPA</b>             | Merkaptopropiyonik Asit                        |
| <b>G4</b>              | G-dörtlü                                       |
| <b>UV-Gör.</b>         | Ultraviyole Görünür                            |
| <b>DNA</b>             | Deoksiribonükleik asit                         |
| <b>Fs</b>              | Ftalosiyanın                                   |
| <b>H<sub>2</sub>Fs</b> | Metalsiz Ftalosiyanın                          |
| <b>MFs</b>             | Metalli Ftalosiyanın                           |
| <b>ctDNA</b>           | Calf Timus DNA                                 |
| <b>BSA</b>             | Bovin Serum Albumin                            |
| <b>PEG</b>             | Polietilen Glikol                              |
| <b>F<sub>D</sub></b>   | DNA ilavesi sonrası Floresans şiddeti          |
| <b>F<sub>K</sub></b>   | Kuantum noktanın Floresans şiddeti             |
| <b>F<sub>F</sub></b>   | Ftalosiyanın ilavesi sonrası Floresans şiddeti |
| <b>F<sub>Ca</sub></b>  | Kalsiyum ilavesi sonrası Floresans şiddeti     |
| <b>F<sub>Mg</sub></b>  | Magnezyum ilavesi sonrası Floresans şiddeti    |
| <b>F<sub>Zn</sub></b>  | Çinko ilavesi sonrası Floresans şiddeti        |
| <b>F<sub>BSA</sub></b> | BSA ilavesi sonrası Floresans şiddeti          |

### SİMGELER

|           |            |
|-----------|------------|
| <b>μL</b> | Mikrolitre |
| <b>mL</b> | mililitre  |
| <b>μM</b> | Mikromolar |
| <b>mM</b> | Milimolar  |
| <b>M</b>  | Molar      |
| <b>nm</b> | Nanometre  |

|            |                     |
|------------|---------------------|
| <b>Kb</b>  | Bağlanma Sabiti     |
| <b>Ksv</b> | Stern-Volmer Sabiti |
| <b>Ca</b>  | Kalsiyum            |
| <b>Na</b>  | Sodyum              |
| <b>Zn</b>  | Çinko               |
| <b>Mg</b>  | Magnezyum           |
| <b>Ga</b>  | Galyum              |
| <b>Cu</b>  | Bakır               |
| <b>K</b>   | Potasyum            |
| <b>Cl</b>  | Klor                |
| <b>Cd</b>  | Kadmiyum            |
| <b>Te</b>  | Tellür              |
| <b>G</b>   | Guanin              |

## 1. GİRİŞ

İlk defa 1981’de Ekimov ve Onushenko tarafından bir cam matrisinde tanımlanmış, nano ölçekli yarı iletken kristaller olarak bilinen kuantum noktaları (KN’ler) için ilk biyolojik görüntüleme uygulaması 1998’de bildirilmiştir. O zamandan bu yana KN’ler; güneş pilleri, ışık yayan diyot (LED) üretimi, fotodetektörler, fotovoltaiik cihazlar, biyomedikal görüntüleme ve bunun gibi alanlarda sürekli gelişme göstermiştir. Yakın kızılötesinde (NIR) ( $>0,650$  nm), birçok geleneksel organik boya, emisyon ihtimalini vermez. Bu bölge biyomedikal görüntüleme için, azaltılmış ışık saçılımı ve zayıf doku emilimi gibi sebeplerle büyük ölçüde arzu edilmektedir. Bu sebeplerden dolayı KN’ler, çok önem kazanmaktadır (Matea vd., 2017). Nanometrik yarı iletkenler, boyuta göre ayarlanabilir ışık emisyonu, uzun ömürleri, yüksek kuantum verimi, iyi kimyasal ve foto kararlılık gibi benzersiz optik özellikleri nedeniyle floresan merkezli biyoalgılama için ideal floresan etiketler haline gelmiştir (Shi-Ge vd., 2013).

KN’lerin kararlı hale gelmesi, kendilerini kaplayan ligandlar sebebiyle meydana gelir ve bu ligandların yapısı sayesinde, organik veya sulu koloidal çözeltiler meydana getirilir (Speranskaya ve Goryacheva, 2013). KN’lerin, yüksek reaktiviteleri ve yüzey alanlarından dolayı pasifleştirilerek veya stabilize edilerek ortam koşullarında kullanılmaya hazır hale getirilmesi şarttır. Bir stabilizatör seçerken dikkate alınması gereken profillerden bazıları, emilim ve lüminesans spektrumudur; ayrıca ortamın bileşimiyle ilişkili olarak kuantum verimi ve ömrü değişkenlik gösterir (Zharkova vd., 2016).

KN’ler, geleneksel organik floresans reaktifleri ile kıyaslandığında, dar emisyon spektrumu, yüksek ışık verimliliği, iyi ışıkla ağartma direnci ve büyük stokes kayması gibi özelliklere sahiptir. Bu özellikler biyosensörlerin geliştirilmesi için önemlidir. Ayrıca KN’lerin bu özellikleri biyoalgılama alanlarında umut verici uygulamaları mümkün kılmaktadır (Ma vd., 2018).

Biyosensörler, biyobelirteçlerin veya biyomoleküllerin tayininde kullanılan sensörler olarak tanımlanır. Biyosensörler, biyomoleküler etkileşimleri aktarmak için fiziksel

elemanlardan ve dönüştürücüden meydana gelen analitik sınıfta bulunan cihazlardır. Sensörler; tıbbi ve klinik uygulamalar, patojenik tanı, biyoreaktörler, kalite kontrol, ilaç üretimi gibi sektörlerin kontrolünde kullanılmaktadır. Biyomolekülleri algılayıp ölçebilen sensörlerin oluşturulması, bu gibi birçok alan için son derece önemlidir (Lakshmipriya ve Gopinath, 2019).

Ftalosiyeninler, ayırt edici renklere sahip koyu mavi-yeşil bir pigmentlerdir (Keen., 1964). Bu pigmentler, dört benzo-bağılı pirol izoindol birimini bağlayan nitrojen atomlarına sahip makrosikliklerdir. Ftalosiyeninler, G-quadrupleks DNA'yı oluşturan istiflenmiş G-tetradlarla bağlanabilmektedirler (Lopes-Nunes vd., 2020).

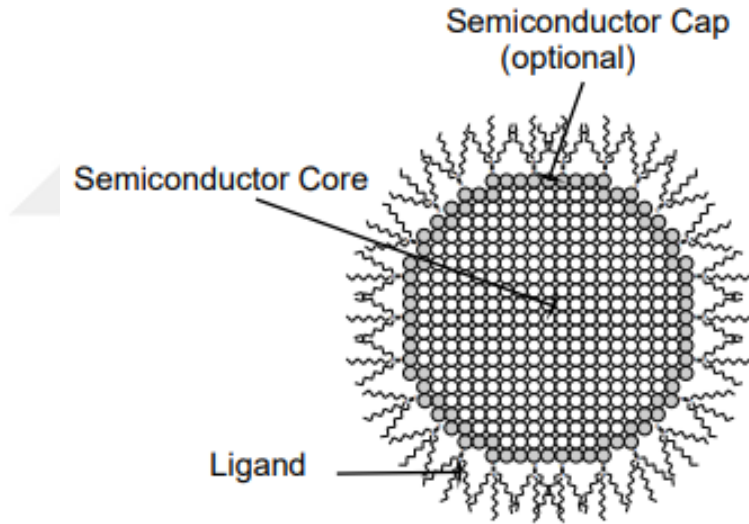
Çift sarmal DNA yapısı 1953 yılında aydınlatılmıştır ardından DNA yapısının gizeminin çözülebilmesi için bugüne dek çeşitli uygulamalar yapılmaya devam edilmiştir. Çift sarmal yapısının beraberinde DNA, ikincil yapılara da katlanmaktadır. Bu katlanmalar molekül içi ya da moleküller arası meydana gelebilmektedir. Çeşitli iyonların ortamda bulunmasıyla ve elverişli şartlarda; guanin bakımından zengin olan nükleik asit sekansları, dört iplikli G-quadrupleks yapılarını meydana getirebilmektedirler (Kerwin, 2010). G-quadrupleksler, terapötik hedefler olarak önem kazanmaktadır çünkü G-quadrupleks ligandlarının antikanser ilaçlar olarak faydalı olması umut edilmektedir (Zhou vd., 2015). G-quadrupleks yapılarla entegre olabilen çeşitli boyalar vardır ve bu boyalar floresan tutumlarında güçlü bir farklılık ortaya çıkarır (Yan vd., 2012). Bu boyalar sadece G-quadrupleks yapılara bağlanmaz, bazıları çift veya tek zincirli DNA yapılarına da bağlanabilmektedirler. Bu sebeple, G-quadrupleks yapıları seçici olarak stabilize edebilen ve indükleyen boya ve ligandların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Mohanty vd., 2013). Yüksek termal kararlılık ve tanımlanmış yapıları olan G-quadrupleksler, DNA nanoteknolojisi ile biyolojik ve biyomedikal gibi çeşitli alanlarda çalışmalar yapılmasına olanak sağlamaktadır (Wilner vd., 2012).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kuantum Noktalar

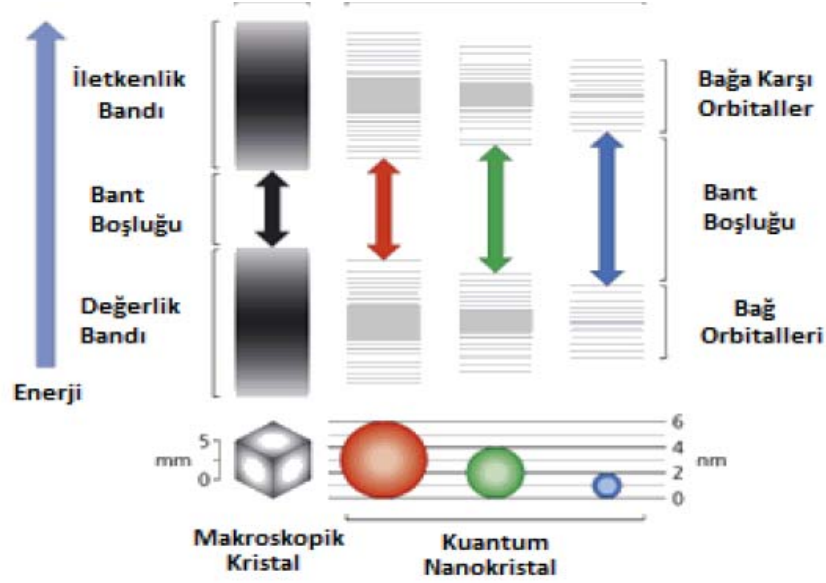
#### 2.1.1. Kuantum Noktalar ve Genel Özellikleri

Kuantum noktaları, 1 ila 10 nm çaplardan oluşan yüksek floresan özellikte inorganik yarı iletken nanokristallerdir. KN'ler, ilk defa 1990'larda önerilmiştir ve neredeyse sıfır boyutlu bir nanomateryal olduğundan nanoteknolojide önemli bir konu haline gelmiştir. Ligandlı çekirdek-kabuk yapısı kuantum noktaların klasik yapısıdır (Şekil 2.1). Nanomateryalin bant boşluğu ile ilişkili olarak, KN'ler doğal ışığı absorplar ve ardından birkaç nanosaniye ile belirli bir renk yayabilir. Partikül boyutu ve bileşimi değiştirilerek, UV'den IR'ye fotolüminesans emisyon bandı rahatça ayarlanabilir (Wang ve Tang, 2020).



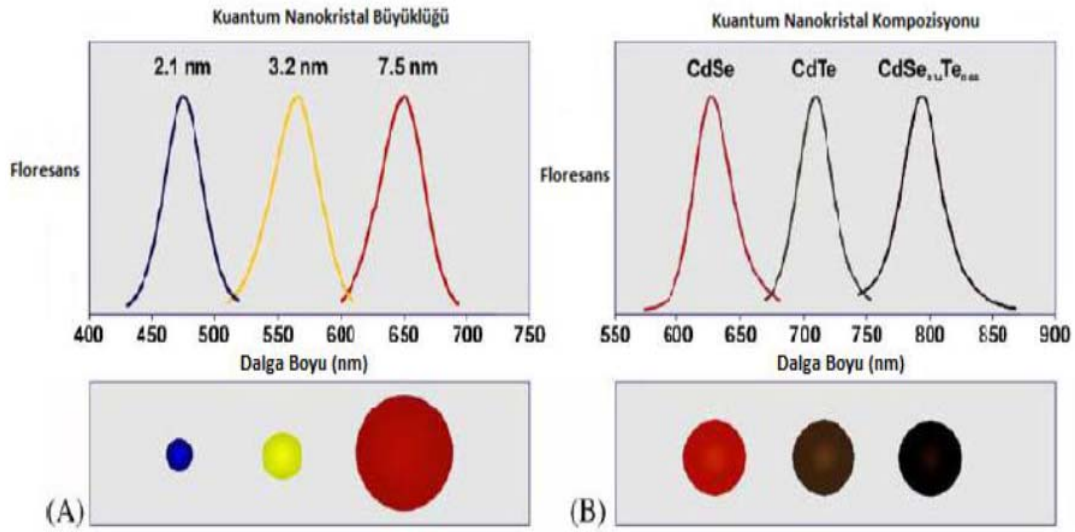
**Şekil 2.1** Kuantum nanokristalin yarıiletken kristal çekirdek-kabuk şeması (Clark, 2005).

KN'ler çap olarak genişledikçe, bant boşluğu olarak bilinen aralığın küçülmesi sebebi ile floresans aydınlanması kırmızı alana doğru ilerlemektedir. Bant boşluğu değerlik bandı ile iletkenlik bandı arasında kalan kısımdır (Şekil 2.2). Boyut genişledikçe daha fazla enerji bandı iç içe girerek daralmayı meydana getirir. Fakat bu daralma belli bir seviyeye kadar sürer daha sonra sabit kalır ve enerji bantları tamamen iç içe geçtikten sonra optik özelliklerinde bir değişim olmaz (Başlak, 2014).



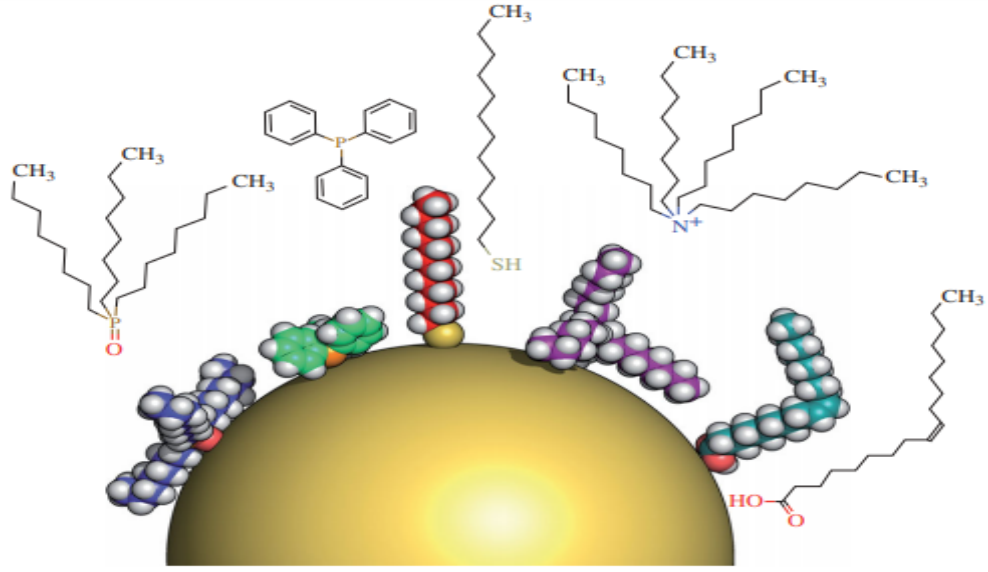
**Şekil 2.2** Kuantum noktaların enerji seviyeleri, değerlik bandı, iletkenlik bandı ve bant boşluğunun gösterim şeması (Ioannou vd., 2010).

KN'ler, biyoloji ve tıp alanındaki geniş uygulamaları sebebiyle önemli bir akademik ve ticari başarı kazanmıştır. Bu yarı iletken taneciklerin elektronik ve optik özellikleri, hem partikül boyutuyla hem de yük taşıyıcılarının dar alanlarda kuantum hapsedilmesiyle değişmektedir. Bir boyutun hapsedilmesi, 'kuantum kuyuları' adı verilen ince yarı iletken tabakaların bir araya gelmesiyle gerçekleştirilir. KN'nin en ilgi çekici özelliklerinden biri de, partikül boyutuyla floresans emisyonu dalga boyunun belirlenmesidir. KN'lerin floresans emisyonu, boyutu ve kimyasal bileşimi değiştirilerek, 400-2000 nm'lik geniş bir dalga boyu aralığını kapsayan yakın kızılötesi (NIR) spektrumuna ayarlanabilir (Şekil 2.3). Işık emisyonunun partikül boyutuyla olan bu ilişkisi, hassas emisyon dalga boylarına sahip yeni floresan yayıcıların geliştirilmesine imkan sağlar. Örneğin, yarı iletken kadmiyum selenid (CdSe), 1.7 eV'luk bir yığın bant aralığına sahiptir (730 nm ışık emisyonuna denk gelir). Bu materyalin KN'si, nanokristal çapını 2'den 7 nm'ye değiştirerek 450-650 nm arasında yayacak biçimde ayarlanabilir. Maddenin bileşimi de, bir yarı iletkenin bant aralığını değiştirmek için kullanılabilir. Örneğin 5 nm çaplı KN, CdSe-Te alaşımının bileşimi değiştirilerek 610-800 nm arasında yayılacak şekilde ayarlanabilir (Smith vd., 2004).



**Şekil 2.3** a) KN'nin bileşimi sabit tutulurken nanopartikül boyutunu değiştirerek görünür bölge boyunca yayılacak şekilde ayarlanabilir olması şeması b) KN'nin boyutu sabit iken, bileşim değiştirilerek emisyon dalga boyunu ayarlamak için kullanılabilir olması şeması (Başlak, 2014)

KN'lerin, bileşimleri ve boyutları ayarlanabilir özellikte olduğundan yüksek soğurma katsayıları ve geniş uyarma profilleri gibi özellikler sağlarlar. Çekirdek yapısında bulunan kristal sebebiyle optik özellikler meydana gelir. Kabuk kısmında bulunan kristal yapı ise koruyucu olması ile birlikte çekirdek yüzeyindeki atom boşluklarını doldurmasıyla görevlidir. Bu tip partiküllerin kabuk kısımları yüzey aktif malzeme ile kaplanabilir. Bunun sebebi, yüzey kısımların dış faktörlerle kolaylıkla bozulabilmesidir. Kaplanan malzemeler kristal yüzeyini çevre etkilerine karşı korumasıyla birlikte partiküllerin organik çözücülerde veya suda çözünmesine de olanak sağlar. Günümüzde daha dayanıklı nanokristaller elde edilebilmesinin nedeni kuantum noktaların çekirdek-kabuk-yüzey aktif madde şeklinde sentezlenmesidir. Buna ek olarak yüzey alanlara istenilen işlevsel gruplar getirilebilmektedir (Şekil 2.4). Kuantum noktalar ile protein, peptid, DNA, antijen/antikor ve bunun gibi biyomoleküller birleştirilerek, çeşitli alanlarda çalışmalar yapılabilmektedir. Nanoteknolojideki hızlı gelişmeler, kuantum nanokristallerin biyoteknolojik çalışmalarda kullanılmasıyla paralel olarak devam etmiştir. Tıp ve biyoloji alanında yarı iletken nanokristallerin kullanılması biyogörüntüleme, hastalıkların tanı ve takibinde önemli bir adım haline gelmiştir (Nie vd., 2003).



**Şekil 2.4** 5 nm yarıçaplı çekirdek yapısına sahip bir partikül yüzeyinde farklı hidrofobik ligand moleküllerinin gösterim şeması (Sperling ve Parak, 2010).

KN'ler floresan boyalarla kıyaslandığında, uzun ömürleri ve uyarılmış durumları, dar ve simetrik emisyon spektrumlarına sahiptirler. İyi kuantum verimleri ve yüksek sönme katsayıları vardır. Ayrıca ışığa daha dayanıklıdır (Nie vd., 2003).

### **2.1.2. Kuantum Noktaların İlaç Salınımında ve Kanser Tedavisinde Kullanımı**

Kanser, vücudun farklı kısımlarına saldırma veya yayılma potansiyeli bulunan hücrelerin anormal büyümesiyle meydana gelen bir hastalık çeşitidir. Kanser tedavisi genellikle radyasyon, kemoterapi ve ameliyatla sınırlı olmakla birlikte tedavisinin klinik etkisi, kanserin kötü huylu tümör olarak tespit edildiği aşamaya bağlıdır. Klinik çalışmalarda kanser tespiti için kullanılan en yaygın yöntemler, tümörlerin tıbbi görüntülemesi, zararlı doku biyopsisi ve vücut sıvılarının biyoanalitik değerlendirmesidir; bu yöntemler artık birçok kanser türünü tespit etmek için oldukça hassas ve spesifik hale gelmiştir. Kanser erken teşhisi ve tedavisi için yeni teknolojilere ihtiyaç duyulmaktadır. Nanoteknoloji alanı kanser kemoterapisinin tedavi amaçlı etkilerinin artırılmasında önemli rol oynamaktadır. Gelişen nanoteknoloji alanı, tıpta ve tekstilde, elektronik ve enerji üretimi gibi birçok alanda potansiyel bir devrim niteliği kazanmıştır. Nano boyutlu moleküllerin kullanım alanı olan nanoteknolojinin, parçacık bileşimi sebebiyle, kararlılık, biyouyumluluk, özgüllük ve ilaç kapsülleme gibi eşsiz özellikleri bulunmaktadır. Kansere karşı

kullanılan çeşitli nano taşıyıcılar arasında, yarı iletken nanokristaller olarak bilinen kuantum noktaları, benzersiz özelliklerinden dolayı tercih edilmektedirler. Hücre zarından rahatça geçme yeteneklerinden ve ilaç hedeflemesi için birden fazla bağlanma bölgesi sağlayan yüksek spesifik yüzey alanlarından dolayı KN'ler ilaç salınımına yönelik avantajlı hale gelmektedirler (Badıllı vd., 2020).

Son yıllarda, kontrollü ilaç salım teknolojisi önemli ölçüde gelişmiştir. Böylece çeşitli ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmeye başlanmıştır. Bu ilaç salım sistemleri arasında nanopartiküller, özellikle kanser araştırma ve tedavisi alanında son derece önem kazanmaktadır. İki ana nanopartikül türü olan inorganik nanopartiküller ve polimerik nanopartiküller biyolojik uygulamalar için yaygın olarak kullanılmaktadır. Geleneksel polimer nanopartiküllerin boyutu genellikle büyüktür (200-500 nm). Bu partiküllerin vücut sistemlerindeki kararlılığı tehlikeli olabilir ve bağışıklığın etkilenmesine yol açabilir. Bu sebeple, ilaçları tümörlere ve metastatik alanlara iletmek gibi önemli amaçlar için ideal olmayabilirler. İnorganik nanopartiküller arasında, 1 ila 10 nm arasında değişen çaplara sahip önemli bir yarı iletken malzeme olarak kuantum noktaları, diğer boyalara kıyasla daha fazla ilgi çekmektedirler. Son zamanlarda kuantum noktalar, hücre etiketlemede floresan probalar, genomik tespit, optik sensörler, DNA analizi gibi birçok biyolojik çalışmalarda kullanılmıştır. Bunun dışında, kuantum noktaların sert kristal kabukları, ilaç salınımı için aktif moleküllerin bağlanmasını ve salınmasını zorlaştırır. Bu dezavantajları yok etmek için kuantum noktaların polimerler tarafından kapsüllenmesi gibi çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Böylece yüksek floresan yoğunluklarına sahip hem teşhis hem de tedavi uygulamalarında kullanmak amacıyla yüksek kuantum verimliliğine sahip KN'ler üretilmektedir. KN türlerinden olan kadmiyum tellür (CdTe) KN'ler, eşsiz kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip yüksek verimlilik ve keskin floresan emisyonu nedeniyle büyük önem arz etmektedir. Sulu faz yaklaşımında CdTe KN'lerin sentezi için yaygın olan yöntem, KN'lerin nanokristal yüzeyine bağlanabilen bir işlevsel gruba ve bir polar ana gruba sahip olan ligandlarla çevrelenerek biyolojik sistemler haline gelmesidir. Böylece yüksek kararlılık ve biyouyumluluğa sahip hale gelmiş olurlar. Sentez esnasında meydana gelen KN'lerin yüzeyindeki kısa ligandlarla; tiyoller, aminler, karboksilik asitler ve piridinler gibi işlevsel grupları barındıran polimerik ligandlar rahatlıkla yer değiştirebilir. KN'lerin polimer parçalarla birleşmesinin sağladığı birçok

fayda dışında, kuantum noktaların polimerlerle bir araya geldikten sonra elektronik veya optik özelliklerinin zayıflaması, polimerlerle zayıf uyumu gibi bazı zorlukları da bulunmaktadır. Bu zorlukların çözümünde zincir uzunluğu, polimerin molar kütlesi, kaplama yöntemi, polimer konformasyonu, meydana gelen polimerin kimyasal yapısı gibi faktörler büyük öneme sahiptir. KN'lerin kapsüllenmesi için ligandlar içeren ve aktif moleküllere daha fazla bağlanma için uygun işlevsel grup içeren metal şelatlama polimerleri de, ilaç salınımı çalışmalarında önem kazanmaktadır (Bardajee vd., 2018).

### **2.1.3. Kuantum Noktaların Görüntüleme Tekniklerinde Kullanımı**

KN'ler, in vitro ve in vivo teşhis amacıyla ayırt edici optik özellikleri nedeniyle çeşitli görüntüleme uygulamalarında aktif olarak kullanılmıştır. 1998'den bu yana KN biyo uygulamalarına ilişkin araştırma ve incelemeler artarak devam etmektedir. Biyomedikal floresan görüntüleme, KN'lerin farklı kullanımları arasında araştırmacılar tarafından büyük ilgi odağı haline gelmiştir. Biyoişlevleştirilmiş KN'ler hücreleri boyut veya renk değişimine göre hedefler, bu da sürekli ışık ve çok renkli görüntülemeyle beraber floresan görüntülemeyle algılamayı genişletmeye yardımcı olmaktadır. KN'ler fotoluminesansları kararlı olduğundan, biyomedikal görüntüleme ve tedavi amaçlı potansiyel maddelerdir. Tümöre has ligandlar, antikörler veya peptitler ile konjuge edilmiş KN'lerin, insan tümör hücrelerinin tespit edilmesi ve görüntülenmesi için faydalı olduğu görülmüştür. Gao vd. 2004'te derialtı insan prostat hastalığı taşıyan farelerde KN-PSMA antikör konjugatlarını araştırmak ve izlemek için görüntüleme vasıtası olarak antikör KN konjugatlarının fayda sağladığını, in vivo tümör görüntüleme ve hedefleme için antikör KN konjugatlarını ilk raporlayan kişilerdir. Antikör KN konjugesinin, KN'ler üzerinde PSMA antikörünün spesifik bağlanması ve ayrıca PSMA antijeninin prostat kanseri hücrelerine bağlanması sebebiyle prostat tümöründe yetkin ve sürekli olarak dağıldığı ortaya çıkmıştır. Yu vd. 2007'de KN içerikli probun özellikle hepatosellüler karsinom hücrelerini hedefleyebileceğini ve bölge olarak bir tahmin yürütülerek kanser hücrelerinde probun dolaşımını araştırıp beklenen sonucun alındığını göstermiştir (Riyaz vd., 2019). Kısaca KN'ler, görüntülenebilme ve ilaç yüklenebilirliği ile taşıyıcı sistem olarak kullanılabilir. Bu da kanser tedavisinde önemli bir yere sahip olduğunu gösterir (Savla vd., 2011).

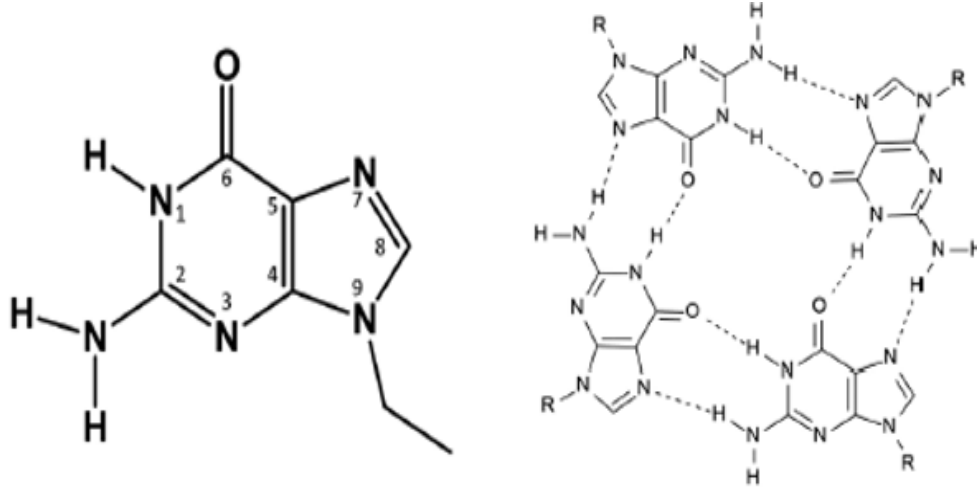
#### 2.1.4. G-quadrupleks DNA

Yaşamsal genetik materyal olan nükleik asitler, organizmaların büyümesinde, gelişmesinde, çoğalmasında, kalıtımında ve çeşitlenmesinde önemli bir göreve sahiptirler. Ribonükleik asit (RNA) ve deoksiribonükleik asit (DNA) olmak üzere iki çeşit nükleik asit bulunmaktadır ve nükleik asitler çeşitli ikincil yapılar meydana getirebilmektedirler. Klasik çift sarmal yapıya ilaveten standart olmayan başka yapılar da oluşturabilirler. Çeşitli yapılar arasında G-quadrupleks yapısı, 1960 larda ilk defa keşfedilmiştir ve o zamandan bu yana önemli bir araştırma ve uygulama alanı olmuştur (Zheng., 2020).

Bazı DNA dizilerindeki komşu guaninler, sarmal düzenlemeler halinde üst üste gelerek G-dörtlülerini meydana getirirler ve her dörtlünün Hoogsteen hidrojen bağlarıyla bağlanmış aynı düzlemdeki dört guaninden oluştuğu 1960 lardan beri bilinmektedir. G-dörtlüler fizyolojik pH, sodyum ve potasyum gibi iyonik kuvvet şartları altında meydana gelirler. Bunlardan bazıları çift iplikli DNA kadar kararlı veya hatta ondan daha kararlı olabilmektedirler. Kararlılıklarının genel sebepleri, hidrojen bağları, dörtlüler arasındaki  $\pi$ -orbital etkileşimleri, dörtlülerin düzeni ve merkezi konumlu katyonlar olarak gösterilebilir. G-dörtlüler, guaninler tarafından bir nükleik asit ipliği içinde tek moleküllü veya moleküller arası oluşturulabilen polimorfik yapılardır. Bu yapıların kararlılığı ilave dörtlülerle artmaktadır (Johnson., 2020).

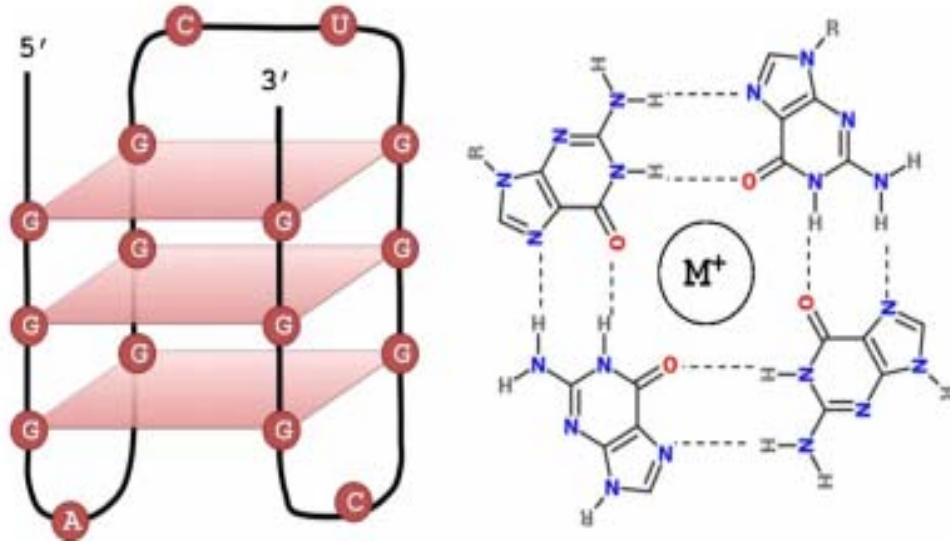
##### 2.1.4.1. Guanin Tetratları ve G-quadrupleks Yapıları

Beş ana nükleobazdan en büyüğü olan Guanin, DNA ve RNA nükleik asitlerinin ikisinde de bulunmaktadırlar. Purin türevi olan  $C_5H_5N_5O$  formülüne sahip guanin bazı, konjüge çift bağlara sahip pirimidinimidazol halka sisteminden meydana gelmektedir. Guanin, Watson-Crick tamamlayıcı nükleotidi olan sitozine üç hidrojen bağıyla bağlanmaktadır ve yalnızca sitozin ile değil aynı zamanda timin, adenin ve kendisiyle de eşleşmek için yüksek bir eğilim göstermektedir (Vorlickova vd., 2012).



**Şekil 2.5** Guanin molekülü ve guanin tetratının kimyasal yapısı (Azargun ve Fridgen., 2015)

Morfolojik açıdan oldukça çeşitli moleküller olan nükleik asitler tek iplikli, çift iplikli, üç iplikli ve hatta dört iplikli yapılar da meydana getirebilmektedirler. Guanin molekülleri, dörtlüler şeklinde bir araya gelerek G-quadrupleks adı verilen bu benzersiz yapıları meydana getirir (Şekil 2.5) (Mergny vd., 1995). Dört guanin nükleotidinin Hoogsteen hidrojen bağıyla birleşerek meydana getirdiği dörtlü yapılar olan guanin tetratları, takımlar halinde istiflenerek G-quadrupleks yapıları oluşturur. Guanin tetratları birleşerek sodyum potasyum gibi çeşitli katyonların var olduğu merkezi boşlukları meydana getirir (şekil 2.6). Bu merkezi boşluğa giren tek değerlikli katyonlar, G-quadrupleks yapısının karalı hale gelmesinde görevlidirler (Neidle vd., 2006).

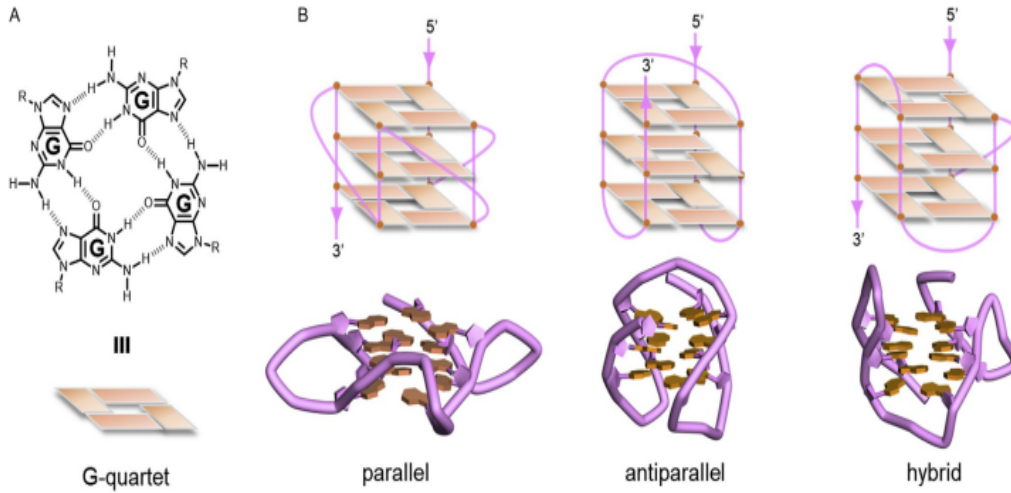


**Şekil 2.6** G-quadrupleks yapısı ve merkezi boşluk.  $M^+$ , tek değerlikli bir katyonu belirtir (Frees vd., 2014).

Katyonların G-quadrupleks yapısının üzerindeki işlevlerinin incelenip, uygun katyon türü ve oranının belirlenmesi ilk yapılan deneysel uygulamalardandır (Smargiasso vd., 2009).

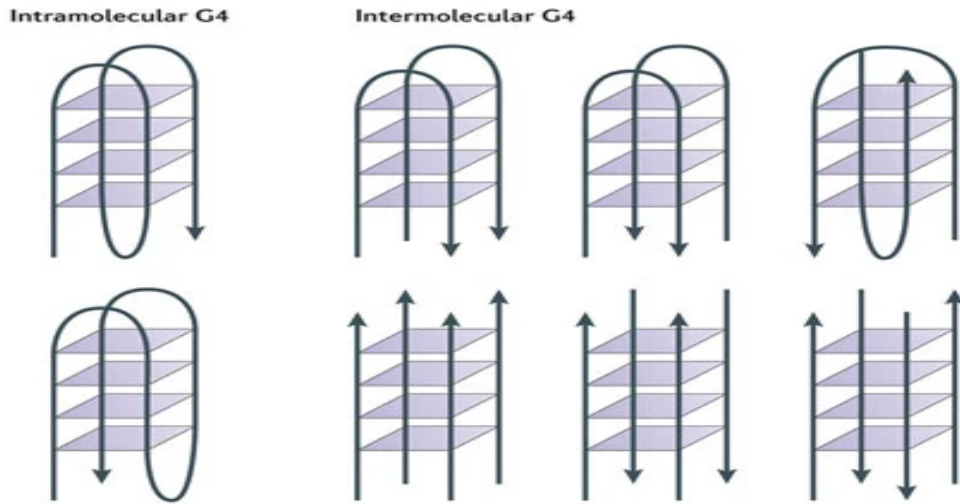
#### 2.1.4.2. G -dörtlü Topolojisi ve Telomerik DNA'lar

Guanin açısından zengin diziler, moleküller arası ve molekül içi G-quadrupleks oluşturabilmektedirler. G-dörtlüler genomun farklı bölgelerinde, özellikle ökaryotik kromozomun uçları olan telomerlerde bulunur. Telomerik DNA'lar hücre yaşlanması ile ilişkilidir ve hücre her bölündüğünde telomerler sürekli olarak küçülür ve sonunda hücre ölümü meydana gelir. Telomerlerin küçülmesi, DNA uç dizilerini uzatarak yaşlanma sürecini geciktiren telomere has ters transkriptaz olan telomراز tarafından dengelenir. Telomراز, özellikle kanser hücrelerinde etkindir. Telomerik DNA'lar paralel, antiparalel ve hibrit G-dörtlüler gibi çeşitli topolojiler meydana getirebilirler (Şekil 2.7). Böylece telomراز aktivitesi, G-dörtlü topoloji tarafından denetlenebilir. Buna örnek olarak, moleküller arası paralel G-quadruplekslerin aktive edilmiş telomrazın substratları olduğu ve antiparalel G-quadruplekslerin olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca ligandın indüklediği kararlı G-quadrupleks, telomraz aktivitesini inhibe eder. Bu sebeple G-quadrupleks bağlayıcı ligandların kullanımı, antikanser ilaçların geliştirilmesinde önemlidir. Ligand bağlanması da G-quadrupleks topolojisiyle ilişkilidir (Tateishi-Karimata vd., 2020).



**Şekil 2.7 a)** Bir G-dörtlüsünün yapısı ve şematik gösterimi. **b)** Paralel antiparalel ve hibrit tip tarafından oluşturulan tipik intramoleküler G-dörtlü DNA yapıları ve şematik gösterimleri (Asamitsu vd., 2019).

G-dörtlülerin katlanma topolojileri nükleik asitlerin dizilimine bağlıdır. Bir G-sistemi içeren paralel tetra-moleküler yapılar tetramerik, iki G-sistemi içeren antiparalel bimoleküler dimerik ve dört G-sistemi içeren molekül içi yapılar monomerik olarak isimlendirilir (Şekil 2.8). Çeşitli G-dörtlü topolojilerinin belirlenmesi için NMR ve X-ray kristalografisi, aktif olarak kullanılmaktadır (Engelhart vd., 2008).



**Şekil 2.8** Molekül içi (sol) ve moleküller arası (sağ) olarak düzenlenmiş farklı G-quadrupleks topolojilerinin şeması. Ok uçları, DNA ipliklerinin yönünü gösterir. Gösterilen moleküller arası yapılar iki veya dört ipliğe sahiptir (Bochman vd., 2012).

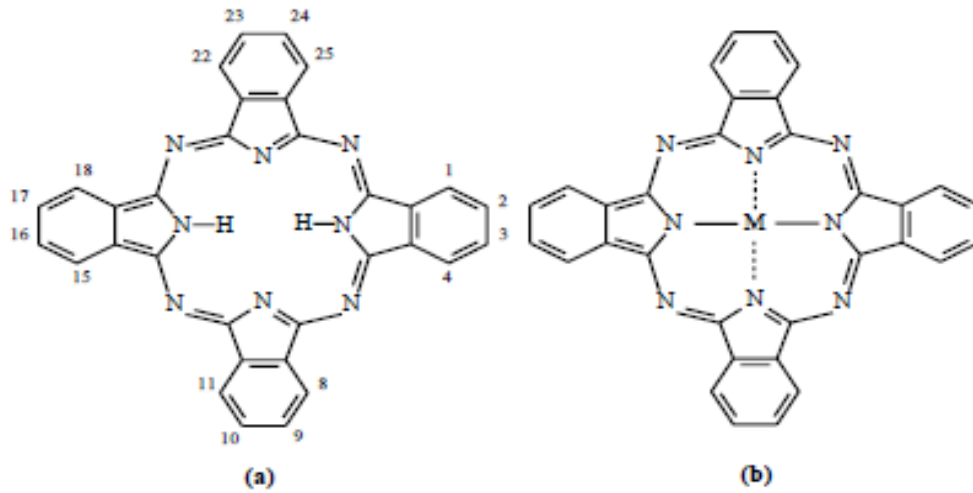
#### 2.1.4.3. G-dörtlülerin Önemi

Belirli şartlar altında meydana gelebilen G bakımından bir hayli zengin diziler olan G-dörtlüler, insan genomlarının telomer bölgeleri, proto-onkogen promoter bölgeleri, transkripsiyonsuz mRNA bölgeleri ve ribozomal DNA bölgeleri gibi düzenleyici kilit noktalarında bulunmaktadır. Son dönemlerde yapılan bazı araştırmalarla, G-dörtlü yapılarının, replikasyon veya transkripsiyon esnasında gen ifadesini etkilemek üzere bu yapıları oluşturan canlı sistemlerdeki fizyolojik faaliyetleri düzenleyebileceği de bulunmuştur. İlaveten bu yapılar tümörle yakından ilişkilidirler (Zheng vd., 2020). Kanserle ilgili genlerin promotörlerinde gözlemlenen G-dörtlü yapı oluşturan diziler, biyomedikal amaçlar olarak antitümör tedavisi için büyük ilgi görmektedirler (Balasubramanian vd., 2011). Tümörlerin üremesini inhibe etmek veya hastalıkları tedavi etmek için farklı farklı G-dörtlü nükleik asitler geliştirilmektedir. G-quadruplex ligandla bağlanmasında farklı özellikler sergiler ve buna örnek olarak, bazı fizyolojik durumlarda G-dörtlü DNA enzim katalizine benzer. Guaninden zengin DNA sekansları, alkali metal iyonlarının varlığında, bir G-dörtlü yapıya katlanabilir ve metaloporfirin halkası ile  $\pi - \pi$  etkileşimi yoluyla katalitik faaliyetlere sahip bir DNAzim meydana getirebilir (Xi vd., 2020). Bunların dışında tek zincirli yada dubleks DNA yapılarına nazaran G-quadruplexler, 2-10 kat daha fazla kuantum floresan verimi göstermeleriyle büyük ilgi çekmektedirler (Miannay vd., 2010).

#### 2.1.5. Ftalosiyaninler

Ftalosiyanin sözcüğü nafta; kaya yağı ve cyanine; koyu mavi anlamına gelen Yunanca terimlerden türetilmiştir. Ftalosiyanin (Fs) ismi ilk defa 1933 yılında Imperial Bilim ve Teknoloji Kolejinde görev alan Profesör Reginald P. Linstead tarafından metalsiz ve metalli ftalosiyaninler ve bunların türevlerinden meydana gelen organik bileşikler sınıfını tarif etmek için kullanılmıştır (Thomas, 1990). Ftalosiyaninler, yüksek konjugasyonlu 18- $\pi$  elektronuna sahip 8 karbon, 8 azot içeren 16 üyeli ve dayanıklı yapıları renkli makrosiklik bileşiklerdir (Akkuş, 2011). Ftalosiyanin ilk sentezinden sonra uzun süreli çalışmalara devam edilmiştir. Robertson'ın X-ışını Kırınım Analizleri sonucunda metalli ve metalsiz ftalosiyaninlerin yapıları da yayınlanmıştır (Robertson ve Woodward, 1937). Merkezde iki hidrojen atomu olduğunda metalsiz ftalosiyanin ( $H_2Fs$ ) adını alır. Eğer merkezde hidrojenler yerine metal atomu

bulunuyorsa metalli ftalosiyanin (MFs) adını alır (Şekil 2.9). Metalli ftalosiyaninlerde ortadaki metal, porfirin halkasının iki azotu ile kovalent, diğer iki azotuyla da koordine kovalent bağ yapısındadır. Metal iyonuyla ligand arasındaki uyum, koordinasyon oyğunun boyutları ile alakalıdır. Metalli ftalosiyaninler,  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$  gibi bir çok element içeren düzlemsel yapılardır ve ftalosiyanin merkezine sıkıca tutunurlar. Böylece uzaklaştırılmaları zorlaşır. Uzaklaştırıldıkları zaman da ftalosiyanin halkası bozulabilir. (Ozdemir ve Ozguney., 2017).

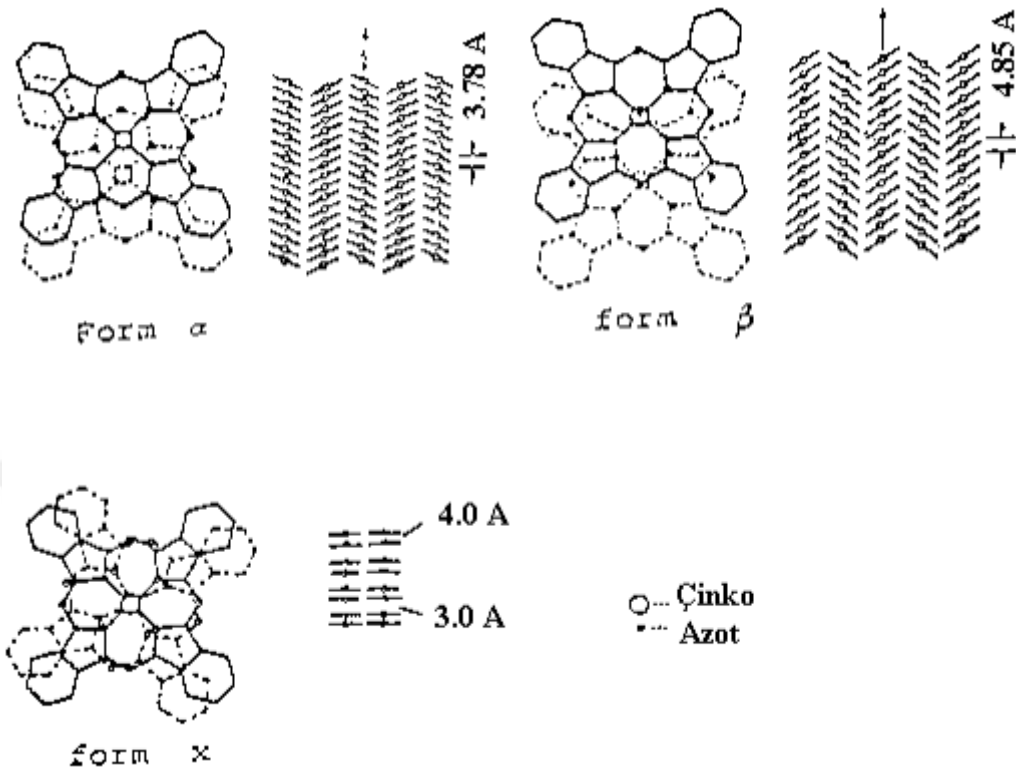


**Şekil 2.9 a) Metalsiz ftalosiyanin (H<sub>2</sub>Fs), b) Metalli ftalosiyanin (MFs) bileşikleri** (Ozdemir ve Ozguney., 2017).

#### 2.1.5.1. Ftalosiyaninlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Ftalosiyaninlerin kimyasal özellikleri merkez atomla ilişkilidir. Metal içeren ftalosiyaninlerin stabilitesi, metal iyonu çapının, ftalosiyanin ortasında bulunan oyuk çapı ile uyumlu olmasıyla mümkündür. Metallerin iyon çapı, ftalosiyanin molekülünün oyuk çapından büyük yada küçük olduğu zaman metal atomları ftalosiyaninlerden rahatça uzaklaşır. Kovalent ftalosiyanin kompleksleri elektrovalent olanlara göre daha stabildir. Ftalosiyaninler 400-500°C sıcaklıkta kristallenir ve bozulmadan süblimleşirler. Nitrik asit dışında anorganik asitlerle etkileştiklerinde yapıları değişmez. Çünkü, metal ve ftalosiyanin arasındaki bağ dayanıklıdır ve bütün molekül aromatik özelliğe sahiptir. Bütün ftalosiyaninler potasyum permanganat ve nitrik asit gibi kuvvetli oksitleyici reaktiflerle etkileştirildiğinde, ftalimid haline gelirler. Ftalosiyaninlerin ticari öneme sahip  $\alpha$ -formu ve  $\beta$ -formu olmak üzere iki çeşit

Figure 1. A schematic diagram of the experimental setup. The subject is seated in a chair, viewing a screen. The screen displays a target (a small circle) and a starting point (a larger circle). The subject's hand is positioned at the starting point. The distance between the starting point and the target is labeled as 'Distance'. The subject is instructed to move their hand from the starting point to the target. The screen also displays a scale bar and a coordinate system.



**Şekil 2.10** Metalli ftalosiyeninlerin kristal yapılarının şeması (Arslanoğlu, 2004).

Ftalosiyanimler yüksek termal kimyasal kararlılığa ve keskin renge sahiptir. Kristal yapısına bağlı olarak bu renkler farklılık sergiler. Buna örnek olarak bakın ftalosiyaninin rengi yüzeysel klor atomlarının artması sebebi ile maviden yeşile döner. Kolay kristallendiklerinden saf ürünler oluştururlar. Ftalosiyanın molekülünün yüzey alanlarına farklı sübstituentlerin eklenmesi ve makro halkanın boşluğuna çeşitli metallerin ilavesiyle farklı özellikler sergileyebilirler. Ftalosiyanimler, kana rengini veren hemin grubu ve yeşil yapraklı bitkilerin pigmenti olan klorofil ile benzer yapılara sahiptirler (Gökçe, 2013).

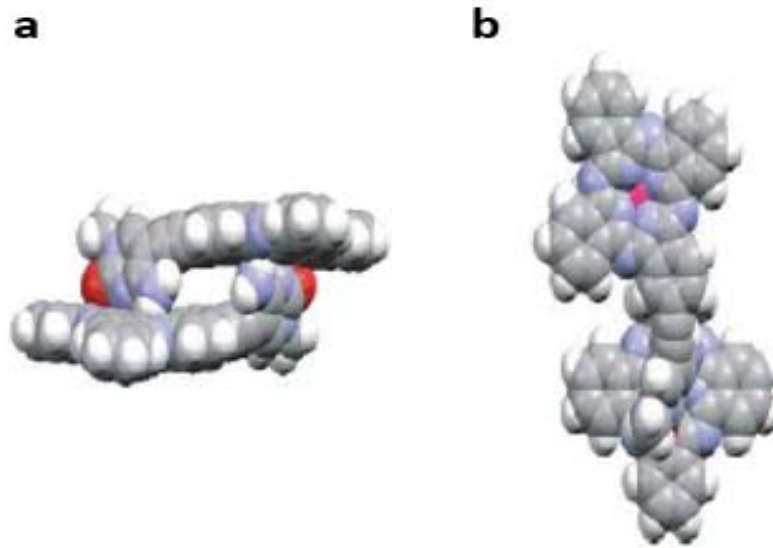
#### 2.1.5.2. Ftalosiyenin-İlaç Konjugatları

Ftalosiyanın suda çözünürlüğünü ve hedefleme kapasitesini en üst düzeye çıkarmaya ilaveten, son zamanlarda geleneksel ilaçlarla ftalosiyaninleri birleştirmek yapılacak çalışmalar için büyük önem teşkil etmektedir. Bu tip konjugatların güçlü kemoterapötik etkiler göstermesi beklenmektedir. Buna örnek olarak, 2013 yılında

Tuncel ve arkadaşları tarafından çinko **Fs**-kalkon konjugatı geliştirilmiştir. Yapılan bu konjugat ile terapötik bir etki elde etmek ve yalnızca fotodinamik terapi veya vasküler bozucu ajanların kullanılmasındaki eksikliklerin üstesinden gelmek amaçlanmıştır. Bunun dışında 2017’de yapılan bir çalışmada doxorubicin ve kısa bir peptid dizisi ile bağlanmış çinko **Fs**’den oluşan bir kemo-fotodinamik konjugat araştırılmıştır. Bu ön ilaç, fibroblast aktivasyon proteini tarafından spesifik ve verimli bir şekilde bölünerek, floresans ve O<sub>2</sub> oluşturma verimliliğinin artmasına neden olmuştur. Ayrıca kanser hücrelerini öldürmek için etkili bir kemo-fotodinamik terapi sağlamıştır. Kısaca ftalosiyanın-ilaç konjugatlarının antikanser aktivitelerini etkilediğini söyleyebiliriz (Li vd., 2019).

### 2.1.5.3. Ftalosiyanın Agregasyon Özellikleri

Agregasyon, aynı moleküller veya atomların moleküller arası çekim kuvveti sebebiyle agregat adı verilen öbekler halinde bir sıvı içinde birleşmesi durumudur (Şekil 2.11). Ftalosiyanın yapısı, büyüklüğü, yer değiştirebilen grubun pozisyonu gibi durumlar agregasyon üzerinde etkilidir. Ftalosiyanın agregasyonu elektronik intermoleküler etkileşimler meydana gelir. Böylece fiziksel ve kimyasal özellikleri değişmektedir. Bu değişimler, ftalosiyanın rengini, fotodinamik ve katalitik aktiviteyi etkileyebilmektedir (Sessler vd., 2006).



**Şekil 2.11 a)** Agregasyona uğramamış ftalosiyanın **b)** agregasyona uğramış ftalosiyanın şeması (Gökçe, 2013).

#### **2.1.5.4. Ftalosiyaninlerin Kullanım Alanları**

Ftalosiyaninlerin keşfinden sonra, bilim adamları ftalosiyaninleri, tıbbi veya teknolojik çalışmalarda kullanmak ve moleküler malzemeler üretmek amacıyla özelliklerinin ayarlanması üzerine uygulamalar yapmışlardır. Bu moleküllerin aralığını arttırmak için sentetik stratejilere yönelik birçok çaba gösterilmektedir. Ftalosiyaninlerin, 18 elektronunun elektronik olarak yer değiştirmesiyle yoğun mavi-yeşil rengi oluşmaktadır. Bu durum, öncelikle çeşitli endüstriyel alanlarda boya ve pigment olarak kullanılmasına yönelmiştir. Ftalosiyaninlerin redoks, sıvı kristal ve singlet oksijen üretimi gibi özellikleri sayesinde, çeşitli yüksek teknoloji çalışmalarında verimli ajanlar olarak kullanılmaktadır. Ftalosiyaninlerin şu anda en umut verici bileşik sınıfı olduğu bilinmektedir. Biyosensörler, optik uygulamalar, boyaya duyarlı fotovoltaiik üretim, yarı iletken malzemeler, oksidasyon veya indirgeme katalizörleri ve fotokatalizörler gibi kullanım alanları da bulunmaktadır. Kuantum noktaları, nanotüpler, lipozomlar gibi nanomalzemeler ile kombinasyonları, ftalosiyaninlerin istenilen özelliklerini verimli bir şekilde artırabilir (Dumoulin vd., 2010).

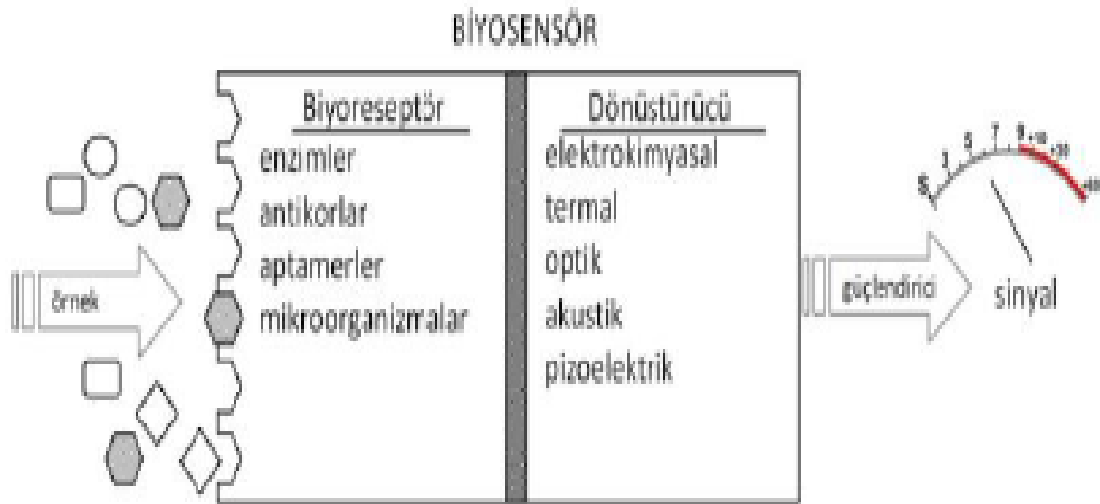
Makrosiklik bileşikler sınıfında olan ftalosiyaninler, uzun dalga boyu bant absorpsiyonları nedeniyle, fotodinamik terapi çalışmaları için ışığa duyarlaştırıcı olarak önem kazanmaktadır. Ftalosiyaninler, aminoasitler, karbonhidratlar, peptidler ve proteinler gibi biyomoleküllerle kovalent olarak bağlanabilmektedir. Böylece farklı kanser hücrelerine veya hayvan modellerine karşı in vitro ve in vivo fotodinamik aktiviteler için uygulamalar yapılmıştır (Iqbal vd., 2015). Bunun dışında suda çözünür ftalosiyanin türevleri ile, G-dörtlü yapıları stabilize eden ve uyaran G-dörtlü ligandlar geliştirilmektedir ve bunun için kapsamlı bir şekilde çalışmalara devam edilmektedir (Uchiyama vd., 2020).

#### **2.1.6. Biyosensörler**

##### **2.1.6.1. Biyosensörler ve Özellikleri**

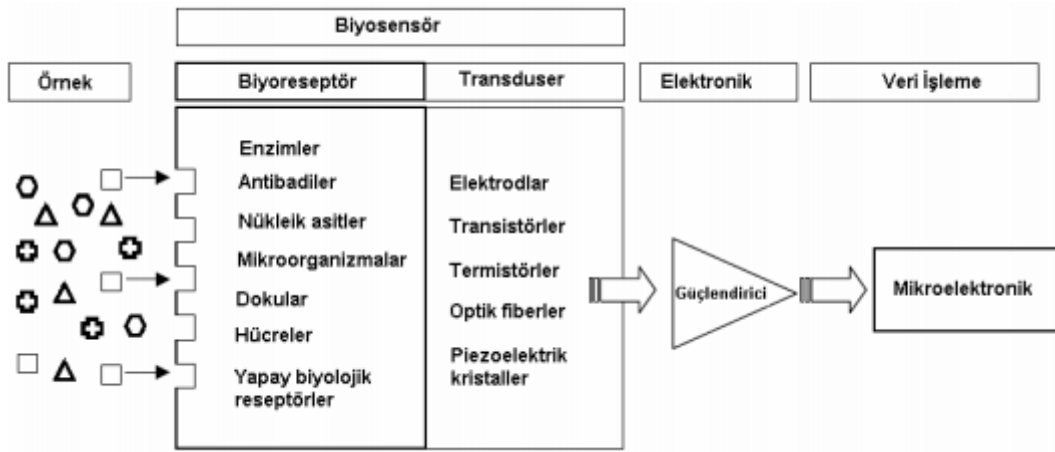
Biyosensör ilk defa, 1956 da oksijen tespiti için Leland C. Clark tarafından geliştirilmiştir (Clark Jr, 1956). Biyosensörler, reaksiyondaki bir analitin yoğunluğu ile orantılı sinyaller oluşturarak kimyasal veya biyolojik reaksiyonları ölçen cihazlardır. Biyosensörler kendine özgü belirli statik ve dinamik özelliklere sahiptir ve

bu özelliklerin optimizasyonu biyosensörün başarısını etkilemektedir. Biyosensörlerin, duyarlılık, doğrusallık, tekrarlanabilirlik, seçicilik gibi özellikleri bulunmaktadır. Bunlar arasında en önemli özelliği belki de seçici olmasıdır. Seçicilik, bir biyoreseptörün test numunesindeki belirli bir analiti tespit etmesidir. Bir antijenin antikorla etkileşimi buna örnek olarak verilebilir. Biyosensörün, çoğaltılmış deneysel kurulumu için aynı cevapları vermesi tekrarlanabilir olduğunu gösterir ve tekrarlanabilirlik, dönüştürücü ve elektroniklerin hassasiyetiyle karakterize edilir. Biyolojik sisteminin çevresindeki ve içindeki ortam olumsuzluklarına duyarlılığı biyosensörün kararlılık özelliğini ifade eder. Tespit edilebilecek minimum analit miktarı da biyosensörün hassasiyetini tanımlamaktadır (Nikhil vd., 2016). Biyosensörler; analit, biyoreseptör, dönüştürücü, elektronik kısımlar ve görüntüleme esaslı ekran bileşenlerinden meydana gelmektedir (Şekil 2.12).



**Şekil 2.12** Biyosensör bileşenlerinin şeması (Chambers vd., 2008).

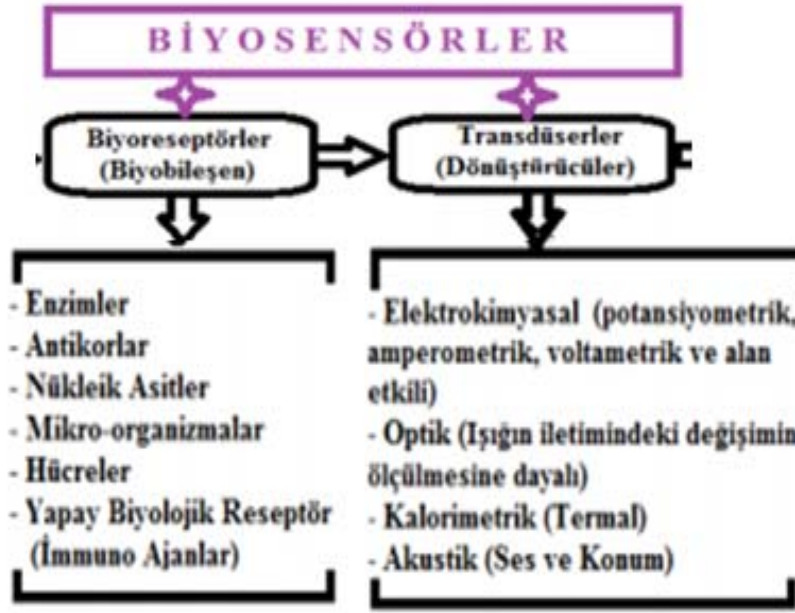
Analit; tespit edilecek madde olarak, biyoreseptör; analiti özel olarak algılayan molekül, dönüştürücü; bir enerji formunu diğerine dönüştüren bir eleman olarak tanımlanabilir. Elektronik kısımlar dönüştürülen sinyali işler ve görüntülemeye hazırlar. Ekran ise, bilgisayarın kristal ekranı gibi kullanıcı tarafından anlaşılabilir ve yorumlanabilir eğriler veya sayılar oluşturan yazıcılardır (Şekil 2.13) (Nikhil vd., 2016).



Şekil 2.13 Bir biyosensörün çalışması şeması (Aykut ve Temiz, 2006).

#### 2.1.6.2. Biyosensörlerin Sınıflandırılması

Biyoreseptörler veya dönüştürücü türlerine (optik, mekanik, elektrokimyasal gibi) göre biyosensörleri sınıflandırabiliriz (Şekil 2.14) (Velusamy vd., 2010). Biyoreseptöre göre sınıflandırma, iki geniş grup oluşturur. Bunlar nükleotitleri kullanan afinite sensörleri, immünosensörleri veya enzimleri kullanan katalitik sensörler ve bağlayıcı proteinleri içermektedir. Hedef analiti tespit etmek için antikorları veya bunların türevlerini kullanan afinite sensörlerine immüno sensör denir. Virüsler, patojen mikroorganizmalar, ksenobiyotikler bunlara örnek olarak verilebilir. Biyo reseptör olarak enzimleri kullanan ve sinyal üretmek için analiti tanıyan sensörler katalitik sensörlerdir. Biyosensörler arasında önemli bir ayrım bulunmaktadır. Bu ayrım analizlerin, bir analiti rekabetçi bir analiz gibi bir analizde mi yoksa doğrudan mı ölçtüğüdür. Rekabetçi sensörler doğrudan analitin kendisinden veri oluşturmazlar (Goode vd., 2015).



Şekil 2.14 Biyosensörün sınıflandırılması şeması (Tüylek, 2017).

#### 2.1.6.3. Floresans Biyosensörler

Floresans biyosensörler, kanser ve ilaç keşfinde kullanım için görüntüleme ajanlarıdır. Bu biyosensörler, üzerine bir veya birkaç floresan probun bir reseptörle (enzimatik, kimyasal veya genetik olarak) bağlandığı küçük iskelelerdir. Reseptör, spesifik bir analiti veya hedefi tanımlar, böylece rahatlıkla ölçülüp analiz edilebilen bir floresan sinyaline dönüştürür. Floresans biyosensörler, metabolitleri, iyonları ve protein biyobelirteçlerini yüksek hassasiyetle araştırabilmektedir. Ayrıca kompleks çözeltideki hedefin durumunu veya aktivitesini ifade edebilir. Bu biyosensörler sinyal iletimi, transkripsiyon, hücre döngüsü ve apoptoz gibi alanlarda gen ekspresyonu, protein lokalizasyonu ve konformasyonun araştırılmasında kullanılmaktadırlar. Kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, viral enfeksiyon kanser ve metastaz belirtileri bu sensörler kullanılarak yapılabilmektedir. Floresan biyosensörler, ilaç keşif uygulamalarında ilaçların tanımlanması ve analiz için kullanılır. Böylece, klinik öncesi değerlendirme ve aday ilaçların terapötik etkisinin ve farmakokinetiğinin klinik doğrulaması için büyük öneme sahiptir (Mehrotra, 2016).

#### **2.1.6.4. Biyosensörlerin Uygulama Alanları**

Biyosensörlerin tıp, eczacılık, gıda, tarım, biyomedikal, çevre analizleri, biyoteknoloji, savunma, endüstriyel gibi uygulama alanları bulunmaktadır. Şimdiye kadar analit tespiti için birçok biyosensör hazırlanmıştır. Bunlardan bazıları ticari olarak üretilmektedir. Biyosensör uygulamaları yapılan alanlar: Klinik diyagnostik, biyomedikal sektör, gıda üretim ve analizi, proses kontrolü, biyoreaktör kontrolü, bakteriyel ve viral tanı amacıyla uygulanan tedavi, ilaç analizi, endüstriyel atık su kontrolü, askeri kullanım, çevre koruma ve kirlilik kontrolü, maden ocaklarında zehirli gaz analizleri, ziraat ve veterinerlik olarak verilebilir (Mehrotra, 2016; Bulut, 2011; Dinckaya vd., 1999).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez kapsamında kullanılan tüm ftalosiyanın bileşikleri Gebze Teknik Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. Mahmut Durmuş tarafından sentezlenerek karakterize edilmiştir. Kullanılan ftalosiyanın bileşiklerinin açık formülleri şekil 4.2, şekil 4.3, şekil 4.4, şekil 4.5’de verilmiştir.

Tez kapsamında kullanılan kuantum nokta Doç. Dr. Tülay Oymak danışmanlığında sentezlenmiştir.

Tampon çözeltilerin hazırlanması ve deneysel aşamaların gerçekleştirilmesinde distile su kullanılmıştır. Çalışmalarda 150 mM KCl içeren TRIS tampon kullanılmıştır.

#### 3.1. Kuantum Nokta Sentezi

Kadmiyum klorür çözeltisi üzerine sırasıyla sodium sitrat, merkaptopropiyonik asit ve pH’ı 9,0 olan Te (IV) eklendi. 60 °C’ye kadar ısıtıldı. Daha sonra sodium borhidrür eklendi. Karıştırılarak 90 °C’de 30 dakika ısıtıldı. Soğuduktan sonra 1:3 oranında etanol eklendi ve 10 dakika süreyle santrifüjlendi. Daha sonra üstte kalan sıvı kısımlar atıldı ve oluşan KN süzülerek saf su ile seyreltildi. KN’ler 0,4 milimolar olacak şekilde sentezlendi.

#### 3.2. AS1411, Tel21 ve Tel45 Oligonükleotid Çözeltilerinin Hazırlanması

Oligonükleotid çözeltileri 150 mM KCl içeren pH 7,4 TRIS tamponu içerisinde ve üretici firmanın önerdiği şekilde hazırlandı. Çözeltiler, 95 °C’de 10 dakika denatürasyon işleminden sonra oda sıcaklığında soğutularak +4 °C’de saklandı. Hazırlanan çözeltilerin çözünmesinin tam olmasını garanti altına alabilmek için hazırlandıktan sonra en az 24 saat beklendi. **ctDNA** 0,001 g/mL olacak şekilde hazırlanıp 95 °C’de 10 dakika denatürasyon işleminden sonra oda sıcaklığına soğutuldu. Hazırlanan çözelti +4 °C’de saklandı. Derişimi 260 nm’deki absorbans değeri ve 6600 Lmol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> molar absorpsiyon katsayısından hesaplandı.

### 3.3. Ftalosiyanin Çözeltilerinin Hazırlanması

Ftalosiyanin çözeltileri  $1,5 \times 10^{-4}$  M olacak şekilde 150 mM KCl içeren tris tamponu içerisinde hazırlandı. Çözeltiler en az 24 saat karıştırıcıda karıştırıldı. Tüm çözeltiler fotokatalitik bozunmadan korunması amacı ile alüminyum folyo ile sarılarak oda koşullarında saklandı.

### 3.4. Uygun Ftalosiyanin Bileşiğinin Seçimi

Kuantum nokta entegre **Fs** biyosensörü geliştirmek için açık formülü Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, ve Şekil 4.5’de verilen dört ftalosiyanin bileşiği (**Fs1**: 2,3,9,10,16,17,23,24-Octakis-[(N-methyl-3hydroxypyridine)phthalocyaninato]; **Fs2**: 2(3),9(10),16(17),23(24)-Tetrakis-[(N-methyl-2-mercaptopyridine)phthalocyaninato] chlorogallium(III) sulphate; **Fs3**: 2,3,9,10,16,17,23,24-Oktakis-[(N- methyl -2-mercaptopyridine) phthalocyaninato] copper (II) sulphate; **Fs4**: 2, 3, 9, 10, 16, 17, 23, 24-Oktakis[4-(N-methyl)-mercaptopyridine]phthalocyaninato galium (III) acetylacetonate sulfate) ile ön denemeler yapıldı. Ön denemelerde kuantum nokta sinyalinin sönümlenmesi ve eklenen **AS1411** ile sinyal geri kazanılması araştırıldı.

### 3.5. Fs-DNA Etkileşimi İçin Bağlanma Sabitlerinin Hesaplanması

**Fs**’lerin DNA türleri ile bağlanma sabitleri Uv-Gör. spektrofotometrik yöntemlerle incelendi. Çalışmada ortama eklenen DNA çözeltisinin ftalosiyanin bileşiğine ait Q bandındaki hipokromik etki incelendi ve absorbans verileri kullanılarak bağlanma sabiti hesaplandı. Bağlanma sabiti Benesi-Hildebrand denkleminden hesaplandı (Benesi ve Hildebrand, 1949):

$$\frac{1}{\Delta A_{\lambda}} = \frac{1}{(\epsilon_b - \epsilon_f)[L_t]} + \frac{1}{(\epsilon_b - \epsilon_f)[L_t]K_{BH}[DNA]}$$

Denklemden  $\Delta A$  absorbans değişimi,  $\epsilon_b$  ve  $\epsilon_f$  bağlı ve serbest ligand için molar absorpsiyon katsayısı,  $[L_t]$  ligandın toplam derişimi,  $[DNA]$  ise DNA derişimidir.  $1/[DNA]$  ya karşı  $1/\Delta A$  grafiğinden  $K_{BH}$  hesaplanmıştır.

### 3.6. Bağlanma Stokiyometrisinin Hesaplanması

Job’s yöntemi ile oluşan bir kompleks molekülün etkileşimine dair stokiyometrik oran belirlenebilir. Bunun için bileşenlerin toplam derişimi sabit tutularak mol kesri oranı

değiştirilir ve sinyal ölçülür. Bileşenlerden birinin mol kesrine karşı sinyal grafiğinden etkileşim stokiometrisi tayin edilir.

Tez kapsamında **Fs**-DNA stokiometrisini belirlemek için eşit derişimlere sahip DNA ve **Fs** çözeltilerinden değişen mol oranlarında (toplam derişim sabit olacak şekilde) bir seri çözelti hazırlandı. Bu çözeltilerin absorbans değerleri mol oranlarına göre grafiğe geçirilerek bağlanma stokiometrisi belirlendi.

### **3.7. Fs Miktarının Optimizasyonu**

Kuantum nokta miktarı ve tüm deneysel parametreler sabit tutularak,  $1,5 \times 10^{-4}$  M **Fs** çözeltisinden çözeltisinden 2,5-7,5  $\mu$ L eklenerek her bir G-quadrupleks ve **ctDNA** için floresans şiddet geri kazanımları araştırıldı.

### **3.8. Geliştirilen Biyosensör Sinyaline Girişimcilerin Etkisi**

Bu çalışma için kullanılan stok iyon çözeltileri  $1,0 \times 10^{-4}$   $\mu$ M, BSA ise % 0,01 derişiminde hazırlandı.

Kuantum nokta entegre **Fs** biyosensörü sinyal kazanımı üzerine biyolojik materyallerde bulunabilen türlerin etkileri incelendi.  $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^{+}$ , BSA (Bovin serum albumin) türlerinin biyosensör sinyaline etkisi DNA türleri yokken araştırıldı. Benzer şekilde bu türlerin bulunduğu deneysel şartlarda DNA'nın belirlenebilmesi de araştırıldı.

Ayrı bir çalışma olarak DNA türlerinden herhangi bir türü ortamda varken girişimci türlerin ortama ilavesinin sinyal üzerine etkisi de araştırıldı.

### **3.9. Biyosensörün Analitik Özellikleri**

Geliştirilen biyosensörün **AS1411**, **Tel21**, **Tel45** ve **ctDNA** tayini için analitik performans özellikleri araştırıldı. Yöntemin doğrusal kalibrasyon aralığı, gözlenebilme ve tayin sınırları belirlenmiş, farklı derişimler için % bağıl standart sapma değerleri hesaplandı. Gözlenebilme ve tayin sınırları sırası ile  $3S_b/m$ ;  $10S_b/m$  formülünden hesaplandı. Formüllerde  $S_b$  boş numunenin standart sapması,  $m$  ise kalibrasyon eğrisinin eğimidir.

### 3.10. Sentetik Biyolojik Ortamlarda Geliştirilen Biyosensörün Uygulaması

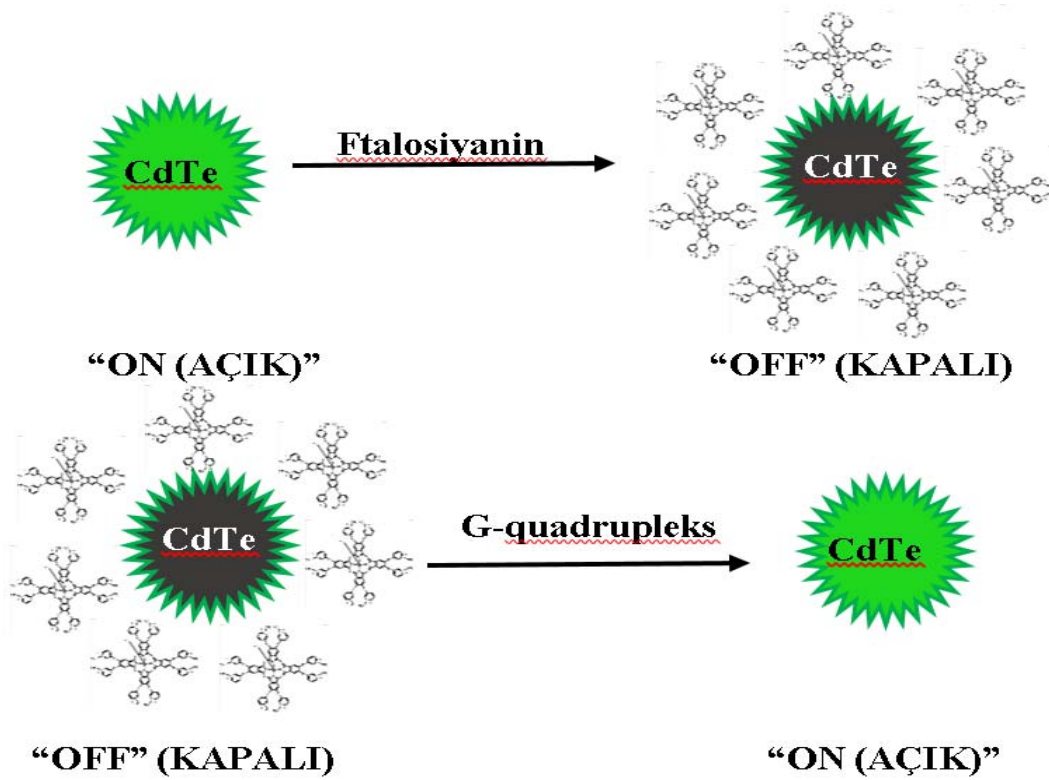
Geliştirilen biyosensörün uygulamaları için PEG içeren sentetik örnekler hazırlandı. Sadece PEG içeren örnek çözeltilerinde çözelti son derişim olarak % 24 PEG 8000 içerecek şekilde hazırlandı. İkinci sentetik örnek uygulamasında ise herbirinden 670 mikromolar olacak şekilde  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ , % 4 PEG 8000 ve % 0,00067 BSA içeren çözelti hazırlandı. Diğer bir sentetik örnek ortamı ise memelilerin hücre içi ortamında bulunan katyon ve anyonların derişimi hücre içi seviyelerinde olacak şekilde hazırlandı (Lodish vd., 2000). Bu sentetik örneklerde % 24 PEG 8000'in yanında memeli hücre ortamını temsilen 139 mM  $K^+$ , 12 mM  $Na^+$ , 4 mM  $Cl^-$ , 12 mM  $HCO_3^-$ , 0,8 mM  $Mg^{2+}$ , 0,00018 mM  $Ca^{2+}$  içerecek şekilde hazırlandı. Ortamda bulunan diğer anyonların derişimi 138 mM olarak ayarlandı. Bu ortamlarda eklenen **AS1411**, **Tel21**, **Tel45** ve **ctDNA** derişimleri kalibrasyon grafiğine karşı belirlendi ve geri kazanım oranları belirlendi. Geri kazanım oranları hesaplanırken 'Toplam Youden sıfırı' yöntemi kullanıldı (Cuadros-Rodriguez vd., 2007). Geri kazanım hesabı aşağıdaki formülden hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Geri kazanım} = \frac{C_{bulunan}}{C_{ilave edilen}} \times 100$$

Formülde  $C_{bulunan}$ , ilgili türün kalibrasyon grafiğinden elde edilen derişimi,  $C_{ilave edilen}$  ise, matriks ortamına ilave edilen ilgili türün derişimidir.

#### 4. BULGULAR

Kuantum nokta entegre biyosensörün çalışma prensibi şu şekildedir: kuantum noktanın floresans emisyonu ftalosiyanin bileşiği ile etkileşimi sonucu sönümlenir. Bu sönümlenmenin ardından eklenen DNA ile ftalosiyanin bağlanarak kuantum nokta tekrar serbest kalır. Serbest kalan kuantum nokta floresans özelliğine tekrar sahip olur (şekil 4.1).



**Şekil 4.1** Kuantum nokta-ftalosiyanin entegre biyosensör çalışma prensibi.

Geliştirilmesi planlanan ve yukarıda çalışma mekanizması verilen biyosensör ile DNA türlerinin belirlenebilmesi için bazı deneysel aşamalar hayati öneme sahiptir. Tez kapsamında kuantum noktanın ftalosiyanin ile entegrasyonu araştırılacağından amaca uygun farklı ftalosiyanin türleri ile ön denemeler yapılmalıdır. Kuantum nokta-ftalosiyanin entegre bir biyosensör geliştirilmesi için önemli noktalardan bir tanesi uygun kuantum nokta (KN) ve ftalosiyanin çiftinin seçilmesidir. Dikkat edilmesi gereken noktalar;

1. Kuantum noktanın floresans şiddetinin yüksek olması,
2. Kuantum noktanın floresans sinyalinin çalışılan ortamda tekrarlanır olması,
3. Kuantum nokta-ftalosiyenin sisteminde tek başına kuantum noktanın floresans şiddeti vermesi, ftalosiyenin ilave edildiği zaman sönümlenmesi ve hedef biyomolekülle etkileştiğinde floresan sinyalinin yeniden kazanılması gerekir.
4. Biyosensörün analitik performansı açısından değerlendirildiğinde, floresans sinyalinin biyomolekülle etkileşim sonucu maksimum geri kazanılması lineer aralık için önemlidir.

Tüm bu noktalar göz önünde bulundurularak aşağıdaki optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

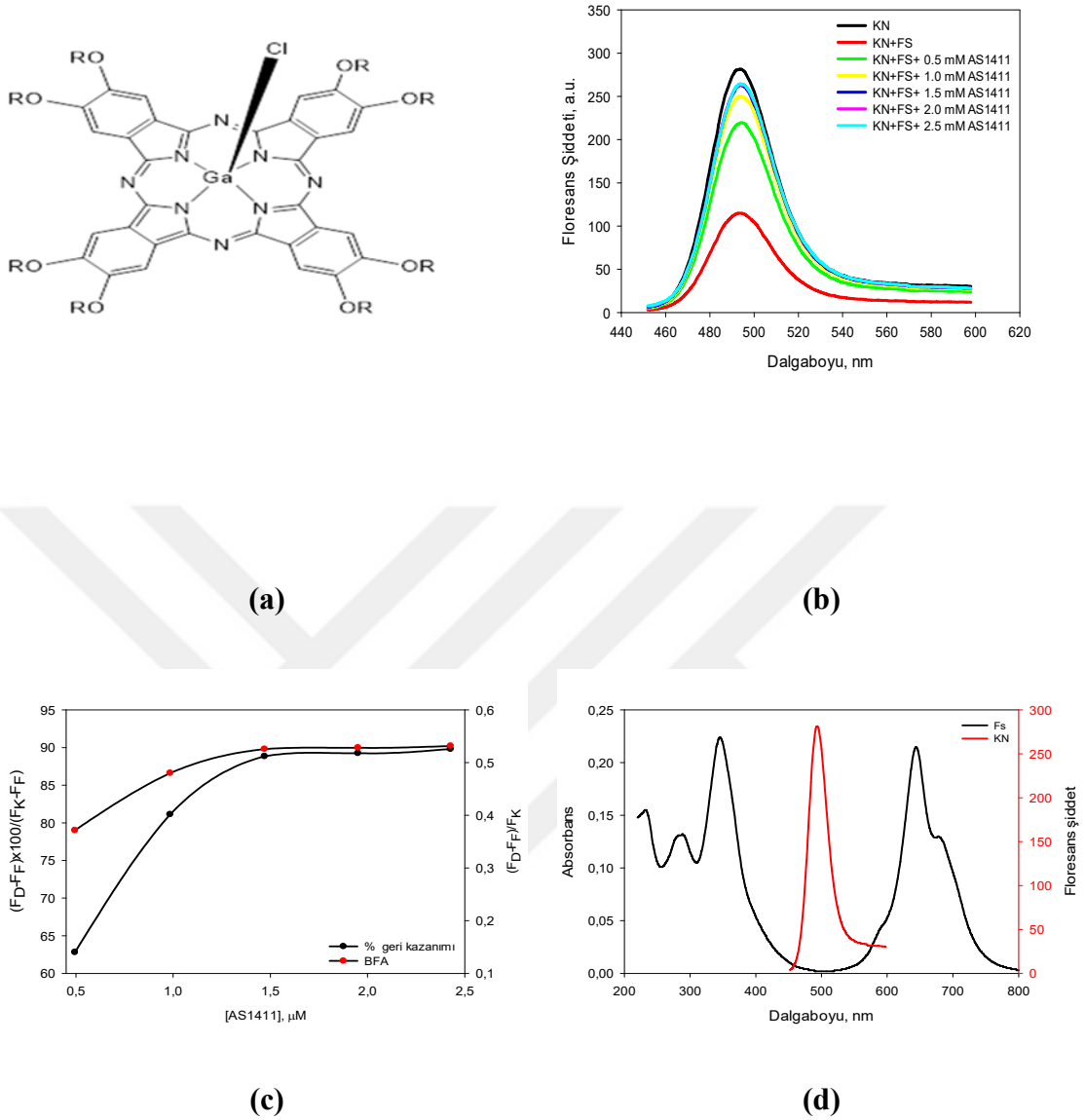
#### 4.1. Kuantum Nokta Ftalosiyanin Seçimi

Kuantum noktanın ftalosiyeninle entegrasyonu için bu iki yapının etkileşimi ve iki yapının etkileşmesi sonucu kuantum noktanın floresans özelliğini kaybetmesi gerekir. O halde merkaptopropiyonik asit kaplı CdTe ile etkileşmesi muhtemel ftalosiyeninlerle ön çalışmalar yapılmıştır. Ftalosiyanin çözeltisinin pozitif yüklü olması, negatif yüklü MPA-CdTe kuantum noktaları ile etkileşimi açısından önemlidir. Bu nedenle tez kapsamında katyonik ftalosiyeninler araştırılmıştır.

Şekil 4.2, şekil 4.3, şekil 4.4 ve şekil 4.5’de çalışmada ön denemeleri yapılan ftalosiyeninler görülmektedir. Tüm ftalosiyeninler sulu çözeltilerinde katyonik özellik göstermeleri için quaternize yapıdadırlar. **Fs1**, **Fs2**, **Fs4** bileşikler Ga merkez atomlu, **Fs3** Cu merkez atomlu ftalosiyenin bileşikleridir. **Fs1**, **Fs3**, **Fs4** 8+, **Fs2** ise 4+ yüklüdür. **Fs4** bileşiği agregasyonun önüne geçebilmek için aksiyel pozisyonda uygun grup içerir.

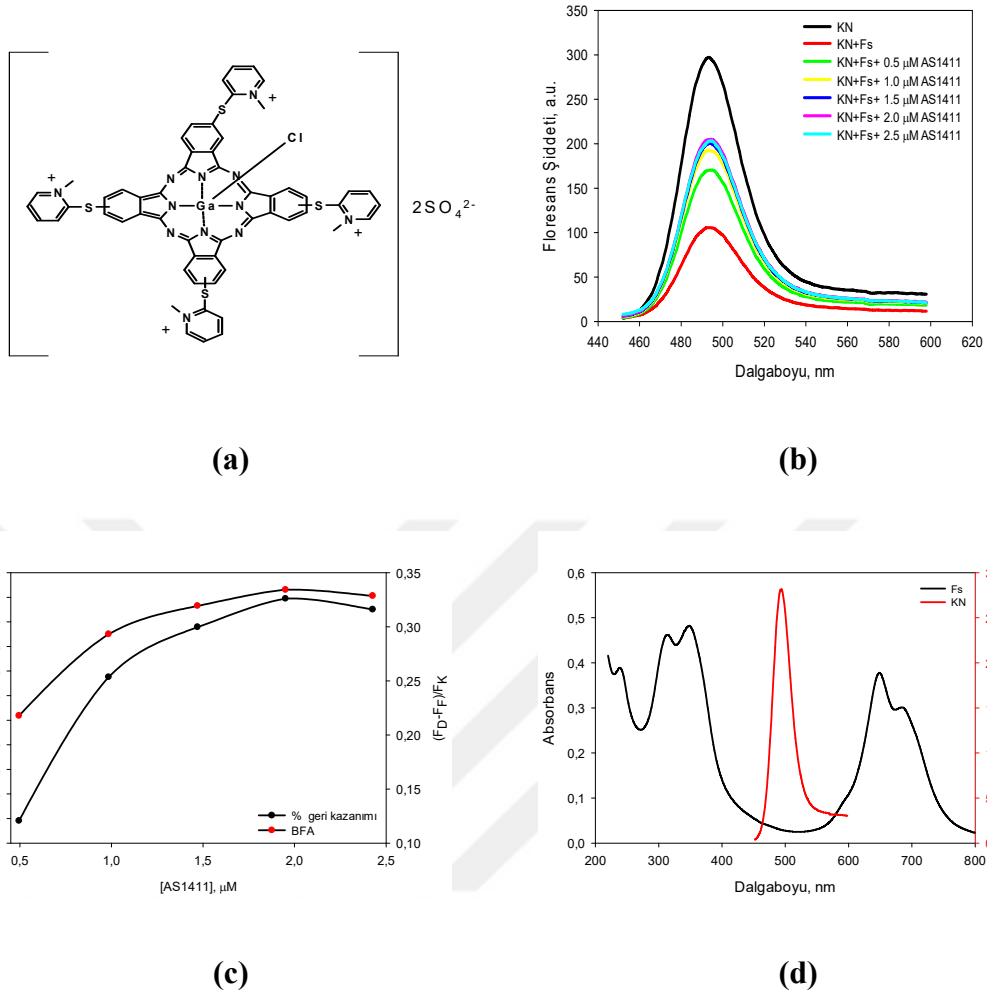
Dört ftalosiyenin bileşiği ile kuantum nokta sönümleme ve floresans emisyonu geri kazanımları çalışmaları yapılmıştır.

Şekil 4.2 incelendiğinde **Fs1** bileşiğinin kuantum noktanın floresans emisyonunu etkin bir şekilde sönümlendiği görülmektedir. Yaklaşık 300 a.u olan floresans şiddeti 100 a.u ya kadar sönümlenmiştir. **AS1411** ile yapılan floresans sinyal geri kazanım çalışmaları ise kuantum noktanın floresans şiddetinin büyük ölçüde (> 90) tekrar kazanıldığını göstermektedir.



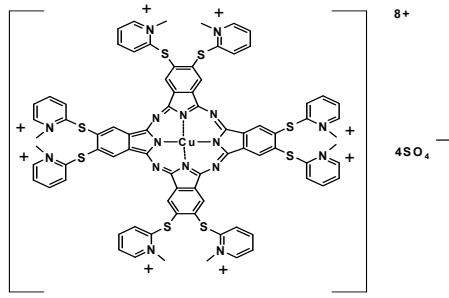
**Şekil 4.2** (a) **Fs1** bileşiği, (b) CdTe-mpa kuantum noktanın **Fs1** varlığında sönümlenmesi ve sinyal geri kazanımı, (c) eklenen **AS1411** sinyal bağıl geri kazanımı, (d) **Fs1** bileşiğinin absorpsiyon spektrumu ve CdTe-mpa'nın emisyon spektrumu ( $\lambda_{\text{exc}}$  290 nm).

**Şekil 4.3**'de **Fs2** bileşiği ile kuantum nokta entegre sistemi ve sinyal geri kazanım çalışmaları görülmektedir. Şekilden görüldüğü gibi **Fs2** bileşiği de kuantum noktayı etkin bir şekilde sönümlenmektedir. Sinyal geri kazanım çalışmaları bu sisteme eklenen **AS1411** ile geri kazanımın yaklaşık orjinal sinyale göre %50 daha az olduğunu göstermektedir.

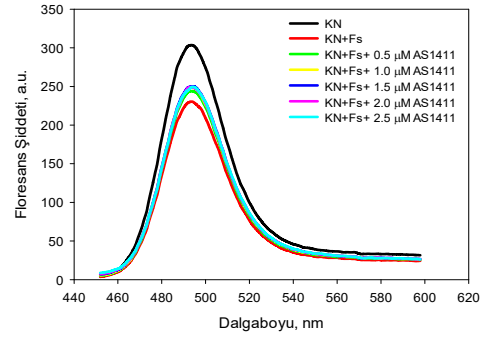


**Şekil 4.3** (a) **Fs2** bileşiği, (b) CdTe-mpa kuantum noktanın **Fs2** varlığında sönümlenmesi ve sinyal geri kazanımı, (c) eklenen **AS1411** sinyal bağıl geri kazanımı, (d) **Fs2** bileşiğinin absorpsiyon spektrumu ve CdTe-mpa'nın emisyon spektrumu ( $\lambda_{ex}$  290 nm).

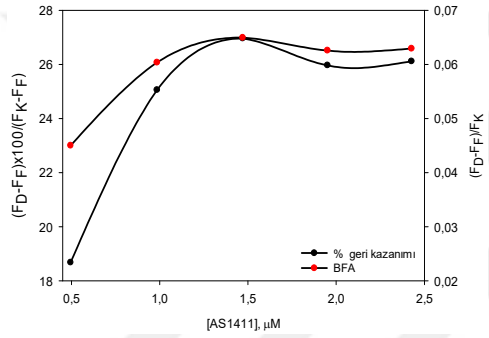
**Fs3** bileşiğinin kuantum nokta entegrasyonu için yapılan çalışmalar Şekil 4.4' de görülmektedir. Şekilden de anlaşıldığı üzere **Fs3** bileşiği kuantum nokta floresans şiddetini **Fs1** ve **Fs2** kadar etkin sönümlememiştir. Öte yandan **AS1411**, ile yapılan geri kazanım çalışmaları bu entegrasyon sonucu DNA ilavesi ile sinyalin orjinal sinyale oranla çok düşük oranda geri kazanıldığını göstermektedir. Sinyal geri kazanımı maksimum % 26 mertebelerine kadar artmıştır.



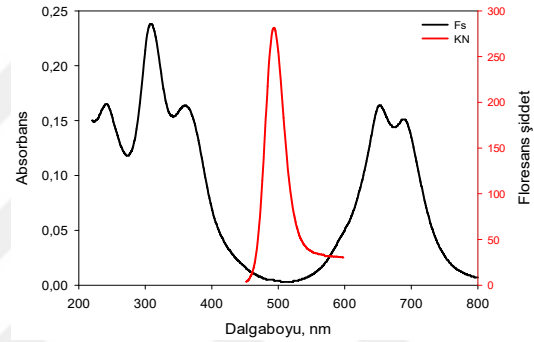
(a)



(b)



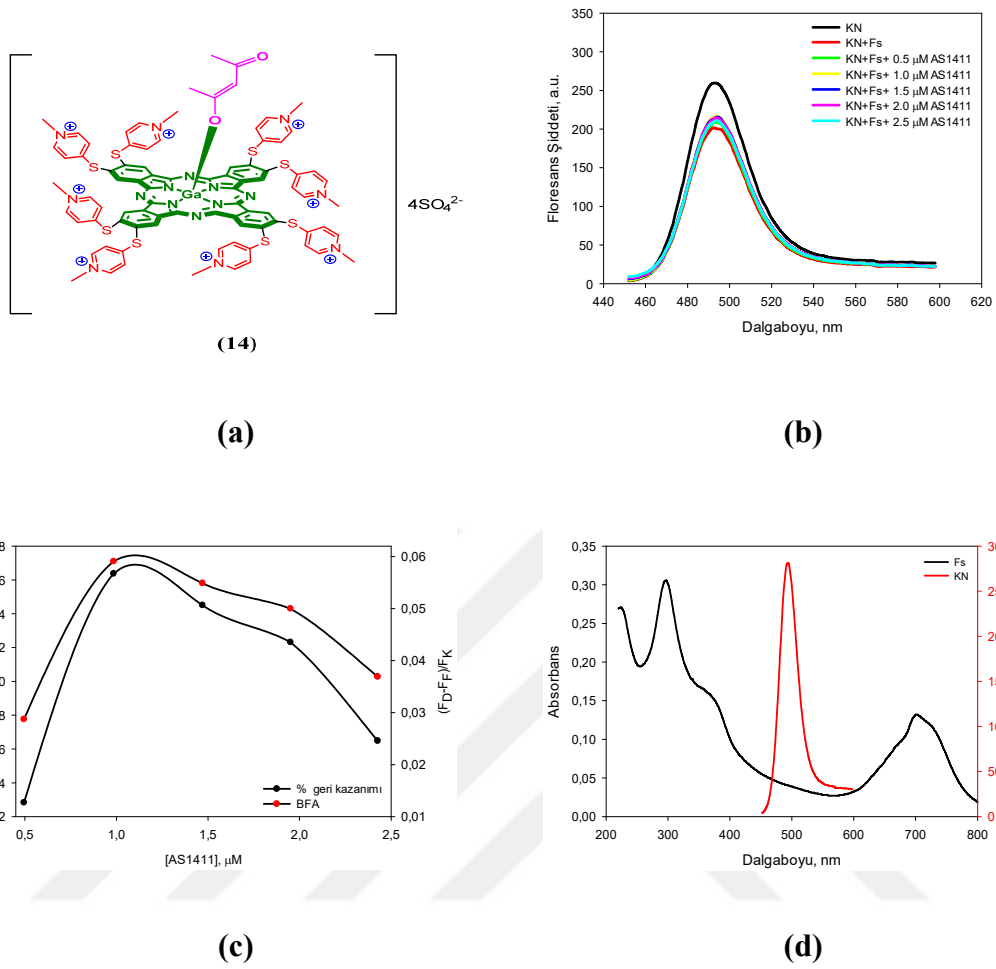
(c)



(d)

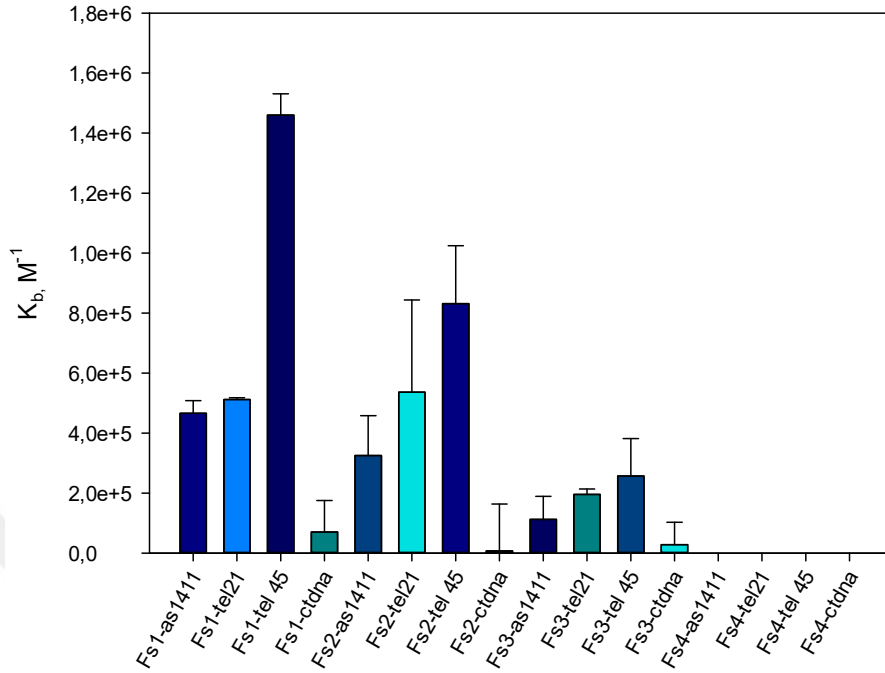
**Şekil 4.4** (a) **Fs3** bileşiği, (b) CdTe-mpa kuantum noktanın **Fs3** varlığında sönümlenmesi ve sinyal geri kazanımı, (c) eklenen **AS1411** sinyal bağıl geri kazanımı, (d) **Fs3** bileşiğinin absorpsiyon spektrumu ve CdTe-mpa'nın emisyon spektrumu ( $\lambda_{ex}$  290 nm).

Şekil 4.5'de **Fs4** ile kuantum nokta entegrasyonuna ait çalışmalar görülmektedir. Şekil 4.5.c'de görüldüğü gibi **Fs4** bileşiği ile floresan sönümleme etkin bir şekilde gerçekleşmemiştir. **Fs3**'de olduğu gibi **Fs4**'te de **AS1411** ilavesi ile floresans şiddeti geri kazanımı %28 mertebelerinde kalmıştır.



**Şekil 4.5 (a) F<sub>4</sub> bileşiği, (b) CdTe-mpa kuantum noktanın F<sub>4</sub> varlığında sönmelenmesi ve sinyal geri kazanımı, (c) eklenen AS1411 sinyal bağıl geri kazanımı, (d) F<sub>4</sub> bileşiğinin absorpsiyon spektrumu ve CdTe-mpa'nın emisyon spektrumu (λ<sub>ex</sub> 290 nm).**

Kuantum nokta entegre biyosensörün kapalı konumundan tekrar açık konumuna geçebilmesi için eklenen DNA'nın ftalosiyanini kuantum noktadan ayırması gerekir. O halde ftalosiyanin ile etkileşimi yüksek olan DNA'ların biyosensörü açık konuma daha etkin getirmesi beklenir. O halde uygun kuantum nokta-ftalosiyanin çiftini seçerken ftalosiyaninin DNA ile etkileşimide göz önünde tutulmalıdır.



**Şekil 4.6** Ön denemelerde araştırılan ftalosiyanın bileşiklerinin çalışılan DNA türleri ile deneysel şartlarda bağlanma sabitleri.

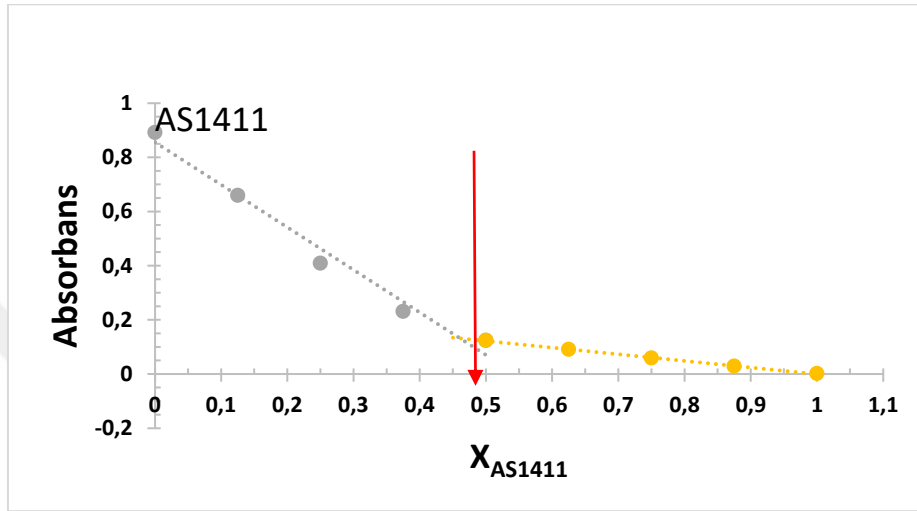
Şekil 4.6’da görüldüğü gibi deneysel şartlarda DNA türleri ile **Fs** bileşiklerinin bağlanma sabitleri birbirlerinden oldukça farklıdır. **Fs1** bileşiği ve **Fs2** bileşiği diğer ftalosiyaninlere göre daha yüksek  $K_b$  değerlerine sahiptir. Öte yandan **Fs1** ve **Fs2** bileşiklerinin bağlanma sabitlerine dair standart sapma verileri de göz önüne alındığında **Fs1** ile çalışmalara devam etmenin uygun olduğuna karar verilmiştir. Çünkü standart sapmanın düşük olması daha ileri çalışmalarda sonuçların kesinliğinin yüksek olması için önemlidir.

#### 4.2. Job’s Yöntemi ile G-quadrupleks DNA Yapılarının Ftalosiyanın ile Etkileşimine Dair Stokiyometrilerinin Belirlenmesi

**Fs1** bileşiği ile çalışmalara devam edilmesi karar verildikten sonra tepkime stokiyometrisi araştırılmıştır.

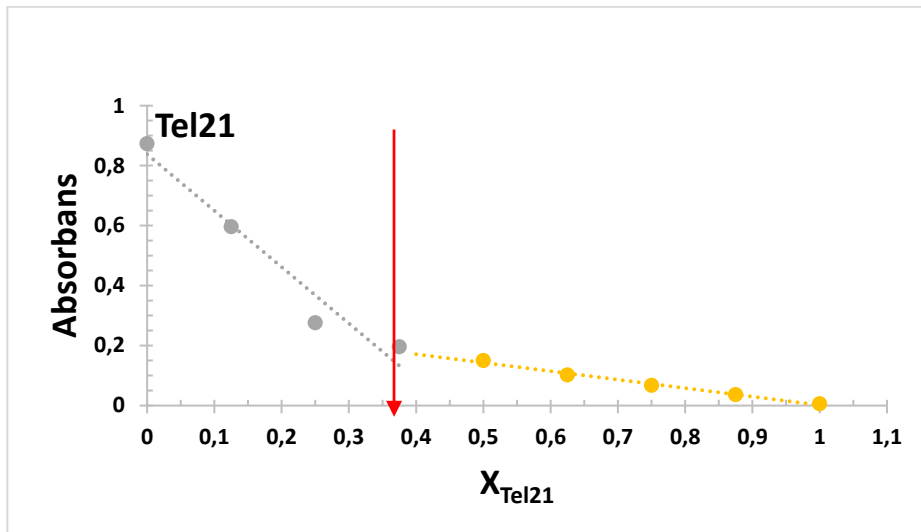
Bunun için toplam derişim sabit tutarak farklı oranlarda ftalosiyanın ve G-quadrupleks DNA içeren bir seri çözeltiler hazırlanmıştır ve ftalosiyanınin 700 nm civarındaki absorbanısı grafiğe geçirilmiştir. Şekil 4.7, şekil 4.8 ve şekil 4.9’da **AS1411**, **Tel21** ve

**Tel45** için Job's yöntemi ile elde edilen stokiyometrik oranlar görülmektedir. Şekil 4.7'den de anlaşılacağı üzere ftalosiyanın molekülü **AS1411** ile 1:1 oranında bağlanmaktadır. Bu tarz bir bağlanma G-quadrupleks DNA'ların üst ya da G-quadrupleks yapılarının alt ya da üst kısımlarına ftalosiyanın istiflenmesi şeklinde (end stacking) ya da interkalasyon şeklinde olabilir.



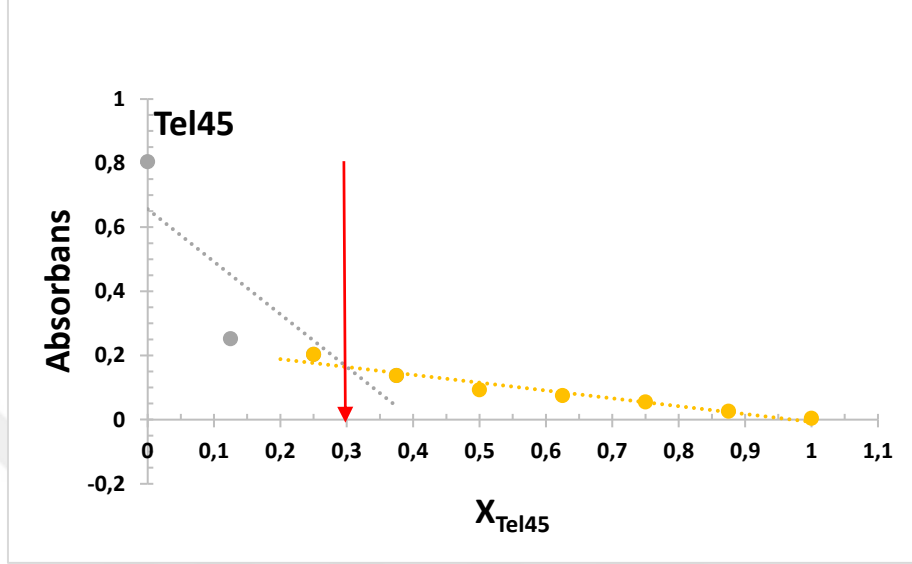
Şekil 4.7 AS1411 ile Fs bileşiğinin etkileşimine dair Job's yöntemi

Şekil 4.8'den **Tel21** ile ftalosiyanın 1:2 stokiyometrik oranında bağlandığı görülmektedir. Böyle bir bağlanma da yukarıda anlatıldığı gibi sona istiflenme ya da interkalasyon olabilir.



Şekil 4.8 Tel21 ile Fs bileşiğinin etkileşimine dair Job's yöntemi

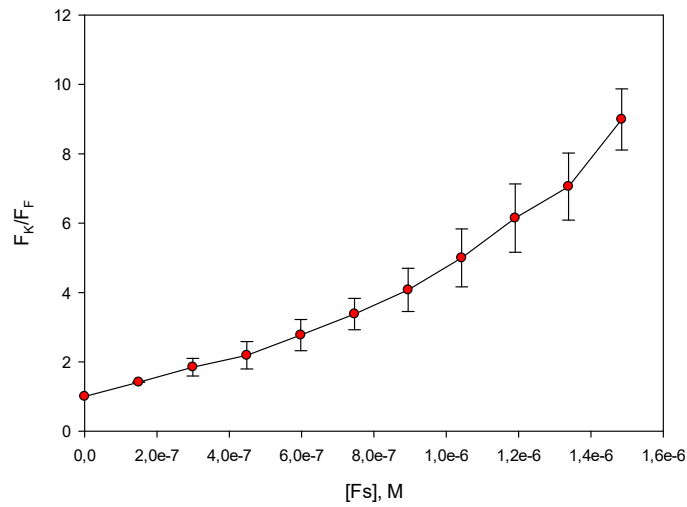
Şekil 4.9’da **Tel45** ve ftalosiyanınin 1:2 stokiyometrik oranında bağlandığı görülmektedir. Böyle bir bağlanma modeli sona istiflenme ile birlikte interkalasyon olabilir.



Şekil 4.9 **Tel45** ile **Fs** bileşiğinin etkileşimine dair Job’s yöntemi

Çalışmada G-quadruplex DNA’lar ile farklı mol oranlarında bağlanan üç farklı oligomer dizisinin seçilmiş olması geliştirilecek biyosensörün farklı DNA’lar için kullanılabilirliğinin gösterilmesi açısından önemlidir.

#### 4.3. Sönümlleme Çalışmaları



Şekil 4.10 CdTe-MPA floresans şiddetinin **Fs1** ile sönümlenmesi

Quantum nokta entegre ftalosiyanin biyosensörü geliştirmede floresans sinyalini eklenen DNA ile geri kazanımının olması için optimum miktarda ftalosiyanin kuantum nokta ile entegre edilmesi gerekir. Bu bölümde ftalosiyanin miktarının optimizasyonu için yapılan çalışmalar anlatılmaktadır.

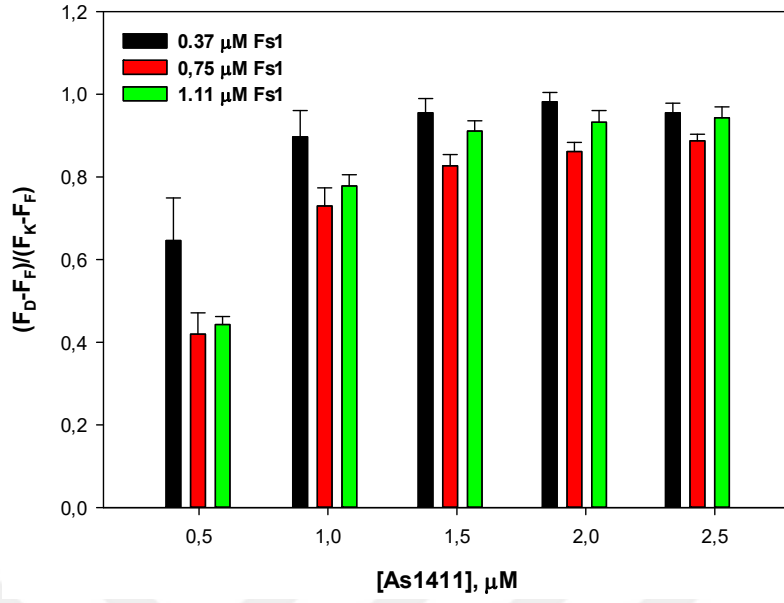
Ftalosiyanin miktarını optimize ederken bazı önemli noktalar göz önünde bulundurulmalıdır. Bunlardan ilki eklenen ftalosiyanin miktarı lineer aralığın geniş olmasını sağlayacak kadar fazla, aynı zamanda DNA eklenmesi ile floresans kazanımını sağlayacak şekilde az olmalıdır. Özellikle ortama eklenen aşırı ftalosiyanin bileşiğinin floresan sinyal kazanımını geri dönüşümsüz inhibe etmesi söz konusu olabilir.

İkinci önemli nokta, biyosensörün sinyalinin kesinliğıdir. Bu nedenle, biyosensörün performansı açısından kesinliğin istenilen mertebede olduğu ftalosiyanin miktarı tercih edilmelidir.

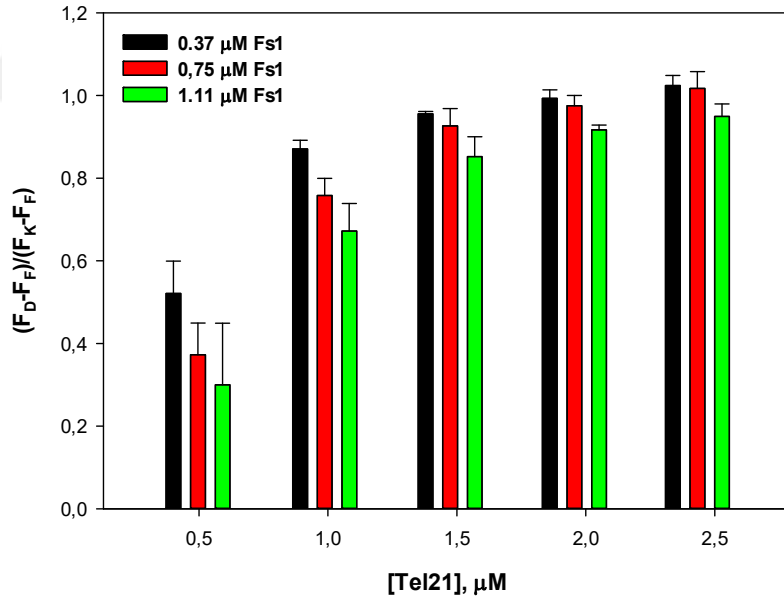
Kuantum noktanın ftalosiyanin bileşiğı ile sönümlenme mekanizmasının açıklaması için Stern-Volmer sönümlenme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Eklenen ftalosiyanine karşı  $F_K/F_F$  grafiğinin eğiminden  $K_{SV}$  sönümlenme sabiti elde edilmiştir. 0-1,48x10<sup>-6</sup> M **Fs1** derişimi aralığında Stern Volmer eşitliğı  $F_K/F_F = 5,04 \times 10^6 [Fs1] + 0,237$  ( $R^2 = 0,942$ ) iken, 0-7,46x10<sup>-7</sup> M **Fs1** derişimi aralığında ise  $F_K/F_F = 3,12 \times 10^6 [Fs1] + 0,934$  ( $R^2 = 0,989$ ) olarak bulunmuştur (şekil 4.10).

Stern-Volmer çalışmalarının ardından ortama eklenen DNA derişimlerine göre geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. şekil 4.11’de **AS1411**, şekil 4.12’de **Tel21**,

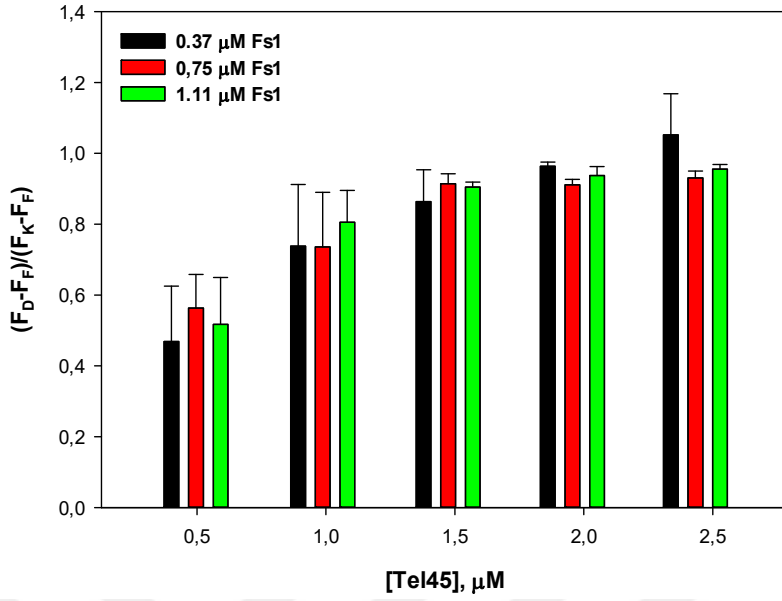
şekil 4.13’de **Tel45** ve şekil 4.14’de ise **ctDNA** ilavesi ile sinyal kazanımları görölmektedir. Tüm verilen şekiller incelendiğinde, **Fs1** derişiminin çalışılan DNA derişimleri arasında sinyal kazanımları üzerine kaydadeğer bir fark gözlenmemiştir. Daha ileri çalışmalar için 0,75 µM **Fs1** derişimi ile çalışılması uygun görölmüştür.



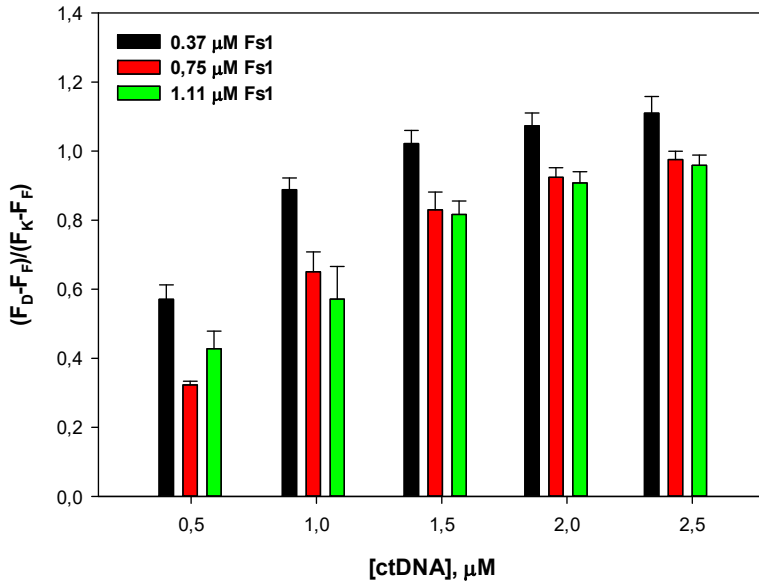
Şekil 4.11 Farklı Fs1 derişimlerinde As1411 ile sinyal kazanımı



Şekil 4.12 Farklı Fs1 derişimlerinde Tel21 ile sinyal kazanımı



Şekil 4.13 Farklı Fs1 derişimlerinde Tel45 ile sinyal kazanımı



Şekil 4.14 Farklı Fs1 derişimlerinde ctDNA ile sinyal kazanımı

#### 4.4. Girişim Çalışmaları

Geliştirilen kuantum nokta-ftalosiyenin entegre biyosensörün floresans emisyonu üzerine biyolojik gerçek numunelerde karşılaşılabilecek iyonların ve biyomoleküllerin çalışılması olası matriks girişimlerini tespit etmek için oldukça

önemlidir. Tez kapsamında girişim çalışmaları oldukça geniş kapsamda gerçekleştirilmiştir. Yapılan literatür çalışmaları ve olası biyolojik gerçek örnekler göz önüne alındığında  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^{+}$  ve serum albumin varlığında biyosensörün floresans şiddetleri takip edilmiştir. Girişim etkisinin olup olmadığını tespit etmek üzere,

1. Kuantum nokta-ftalosiyanın entegre biyosensör sinyali üzerine direkt girişimci türün etkisi,
2. Matrisde girişimci tür varken DNA türlerinin floresans emisyon geri kazanımı,
3. DNA varlığında floresans geri kazanımı sağlandığı durumda girişimci türün floresans şiddetine etkisi

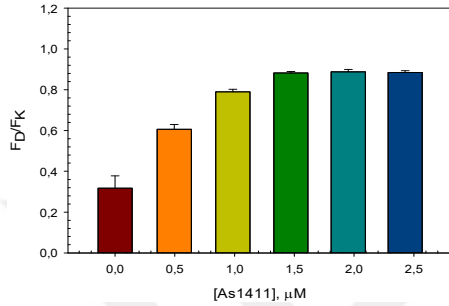
çalışılmıştır. Tüm bu çalışmalar kuantum nokta-ftalosiyanın entegre biyosensör sisteminin **AS1411**, **Tel21**, **Tel45** ve **ctDNA** türlerini belirlemedeki olası girişimleri için ayrı ayrı incelenmiştir.

#### **4.4.1. Biyosensor Performansına Kalsiyum İyonunun Etkisi**

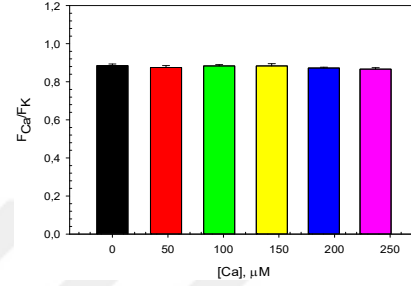
Şekil 4.15’de geliştirilen kuantum nokta entegre sisteme kalsiyum iyonlarının etkisi görülmektedir. Şekil 4.15.a. ve tablo 4.1’de entegre sistemin **AS1411** ilavesi ile floresan şiddetinin geri kazanımı (sinyal kazanımı) görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu M$  **AS1411** varlığında 100 kat oranında  $Ca^{2+}$  ilavesi ile sinyal kazanımının önemli bir şekilde değişmediği gözlenmiştir (şekil 4.15.b), sinyal geri kazanımı  $0,885 \pm 0,008$  den  $0,867 \pm 0,008$  değişmiştir). Ayrıca geliştirilen biyosensör  $Ca^{2+}$  varlığında sinyal değişimine neden olmasına rağmen (sinyal geri kazanımı  $0,323 \pm 0,056$  dan  $0,464 \pm 0,005$  değişmiştir) 250  $\mu M$  varlığında **AS1411** in 0-2,5  $\mu M$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,464 \pm 0,005$  dan  $0,877 \pm 0,015$  e artırmıştır. Sinyal geri kazanımları  $Ca^{2+}$  yokluğunda ve varlığında 2,5  $\mu M$  **As1411** için sırası ile  $0,885 \pm 0,008$  ve  $0,877 \pm 0,015$ ’dir.

**Tablo 4.1**  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının AS1411 belirlenmesine etkisi

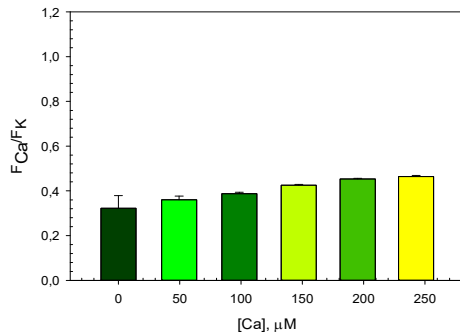
|        |     | Ca <sup>2+</sup> |             |             |             |
|--------|-----|------------------|-------------|-------------|-------------|
| μM     |     | 0                | 250         | 0           | 250         |
| AS1411 | 0   | 0,317±0,060      | -           | 0,323±0,056 | 0,464±0,005 |
|        | 2,5 | 0,885±0,008      | 0,867±0,008 | -           | 0,877±0,015 |



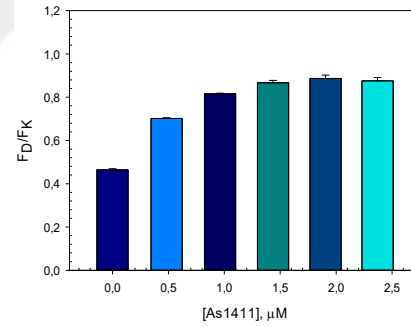
(a)



(b)



(c)



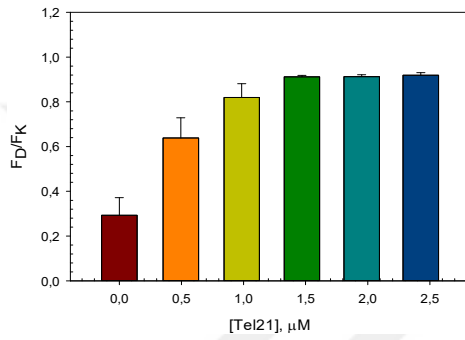
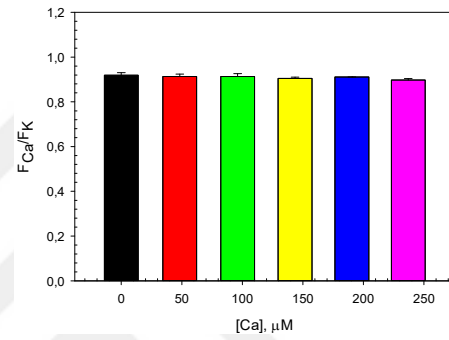
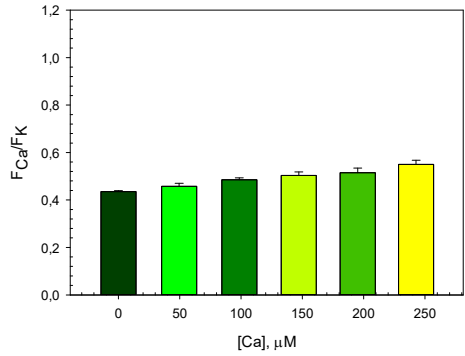
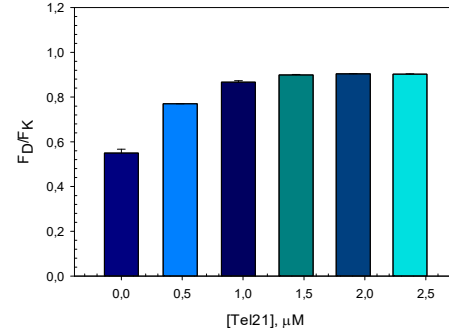
(d)

**Şekil 4.15** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline AS1411 etkisi, (b) KN-Fs+AS1411 sistem sinyaline Ca etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Ca etkisi, (d) KN-Fs+ Ca sistem sinyaline AS1411 etkisi

$\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının **Tel21** belirlenmesi üzerine etkisi şekil 4.16'da ve tablo 4.2'de verilmiştir.  $\text{Ca}^{2+}$  iyonları biyosensöre sinyal kazanımına etki ettiği halde (şekil 4.16.c) **Tel21** in 2,5  $\mu\text{M}$  derişimindeki sinyal kazanımı üzerine etkisi ihmal edilir seviyededir.  $\text{Ca}^{2+}$  yokluğunda ve varlığında **Tel21**'in sinyal kazanım değeri  $0,919 \pm 0,012$  den  $0,903 \pm 0,001$  e değışmiştir.

**Tablo 4.2**  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının **Tel21** belirlenmesine etkisi

|       |     | Ca <sup>2+</sup> |             |     |             |             |
|-------|-----|------------------|-------------|-----|-------------|-------------|
|       |     | μM               | 0           | 250 | 0           | 250         |
| Tel21 | 0   | ↓                | 0,292±0,079 | -   | 0,435±0,004 | 0,550±0,017 |
|       | 2,5 | ↓                | 0,919±0,012 | →   | 0,898±0,006 | -           |

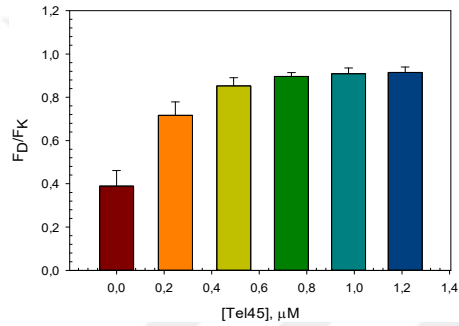
**(a)****(b)****(c)****(d)****Şekil 4.16** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **Tel21** etkisi, (b) KN-Fs+ **Tel21** sistem sinyaline Ca etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Ca etkisi, (d) KN-Fs+ Ca sistem sinyaline **Tel21** etkisi.

$\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının entegre biyosensörün **Tel45** belirlenmesine etkisi şekil 4.17’de görülmektedir. Tablo 4.3’den görüldüğü üzere  $\text{Ca}^{2+}$  iyonları biyosensörün sinyal kazanımına neden olduğu halde **Tel45** in 2,5  $\mu\text{M}$  derişimindeki sinyal kazanımı

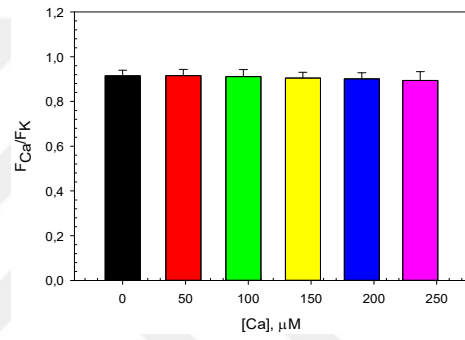
üzerine etkisi ihmal edilir seviyededir. Sinyal geri kazanımları  $\text{Ca}^{2+}$  yokluğunda ve varlığında 2,5  $\mu\text{M}$  **Tel45** için aynıdır (sırası ile  $0,915 \pm 0,025$  ve  $0,876 \pm 0,014$ 'dir).

**Tablo 4.3**  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının **Tel45** belirlenmesine etkisi

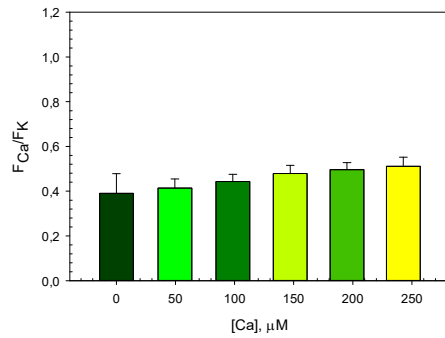
|       |     | Ca <sup>2+</sup> |             |             |             |             |
|-------|-----|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       |     | μM               | 0           | 250         | 0           | 250         |
| Tel45 | 0   |                  | 0,390±0,072 | -           | 0,390±0,088 | 0,511±0,041 |
|       | 2,5 |                  | 0,915±0,025 | 0,894±0,040 | -           | 0,876±0,014 |



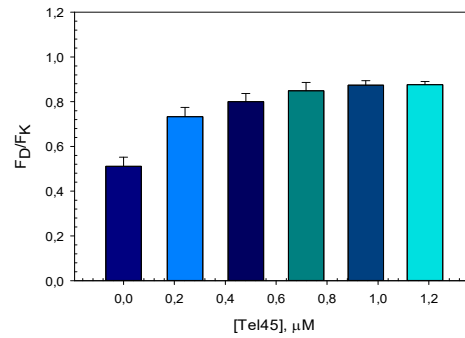
(a)



(b)



(c)



(d)

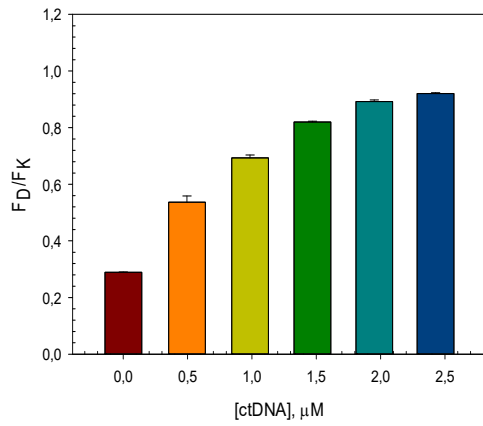
**Şekil 4.17** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **Tel45** etkisi, (b) KN-Fs+ **Tel45** sistem sinyaline Ca etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Ca etkisi, (d) KN-Fs+ Ca sistem sinyaline **Tel45** etkisi.

Şekil 4.18 ve tablo 4.4'de entegre sistemin **ctDNA** ilavesi ile floresan sinyal kazanımı görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu\text{M}$  **ctDNA** varlığında 100 kat oranında ilavesi  $\text{Ca}^{2+}$  ile

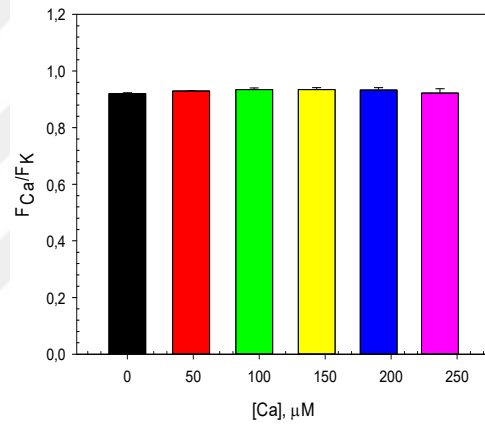
geri kazanımın önemli bir şekilde değişmediği gözlenmiştir (şekil 4.18.b, sinyal kazanımı  $0,921 \pm 0,003$  den  $0,923 \pm 0,015$  değişmiştir).  $\text{Ca}^{2+}$  250  $\mu\text{M}$  varlığında **ctDNA** in 0-2,5  $\mu\text{M}$  aralığında artırılması sinyal kazanımı  $0,489 \pm 0,032$  dan  $0,897 \pm 0,060$  e artırmıştır. Sinyal kazanımları  $\text{Ca}^{2+}$  yokluğunda ve varlığında 2,5  $\mu\text{M}$  **ctDNA** için yaklaşık aynıdır (sırası ile  $0,921 \pm 0,003$  ve  $0,897 \pm 0,060$ 'dir).

**Tablo 4.4**  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının **ctDNA** belirlenmesine etkisi

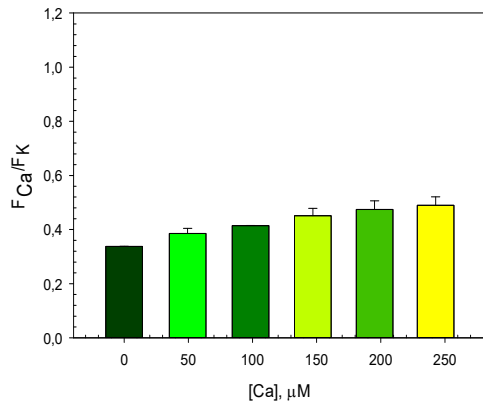
|       |     | Ca <sup>2+</sup> |             |             |             |
|-------|-----|------------------|-------------|-------------|-------------|
| μM    |     | 0                | 250         | 0           | 250         |
| ctDNA | 0   | 0,289±0,001      | -           | 0,338±0,001 | 0,489±0,032 |
|       | 2,5 | 0,921±0,003      | 0,923±0,015 | -           | 0,897±0,060 |



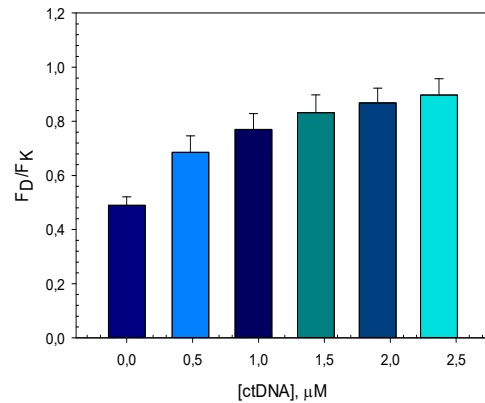
(a)



(b)



(c)



(d)

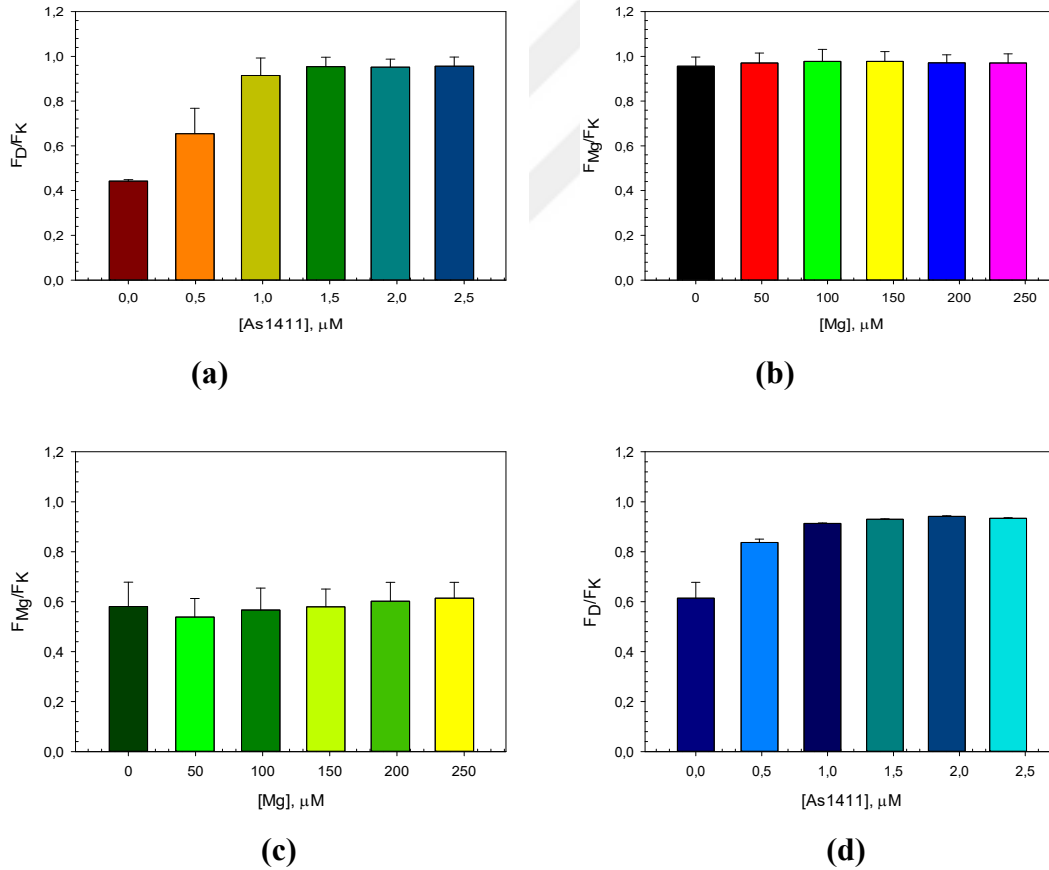
**Şekil 4.18** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **ctDNA** etkisi, (b) KN-Fs+ **ctDNA** sistem sinyaline  $\text{Ca}$  etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline  $\text{Ca}$  etkisi, (d) KN-Fs+  $\text{Ca}$  sistem sinyaline **ctDNA** etkisi

#### 4.4.2. Biyosensor Performansına Magnezyum İyonunun Etkisi

Entegre sistemin sinyal performansına  $Mg^{2+}$  iyonlarının etkisi araştırılmıştır. **AS1411** varlığında sistemin performansına  $Mg^{2+}$  iyonlarının etkisi şekil 4.19’da ve tablo 4.5’de verilmiştir. 250  $\mu M$   $Mg^{2+}$  iyonlarını yokluğunda ve varlığında ortama 2,5  $\mu M$  **AS1411** eklendiğinde sinyal kazanım verileri  $0,956 \pm 0,041$  ve  $0,934 \pm 0,002$  olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.5**  $Mg^{2+}$  iyonlarının **AS1411** belirlenmesine etkisi

|        |         | $Mg^{2+}$   |             |             |             |
|--------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|        | $\mu M$ | 0           | 250         | 0           | 250         |
| AS1411 | 0       | 0,442±0,006 | -           | 0,581±0,098 | 0,614±0,063 |
|        | 2,5     | 0,956±0,041 | 0,970±0,041 | -           | 0,934±0,002 |

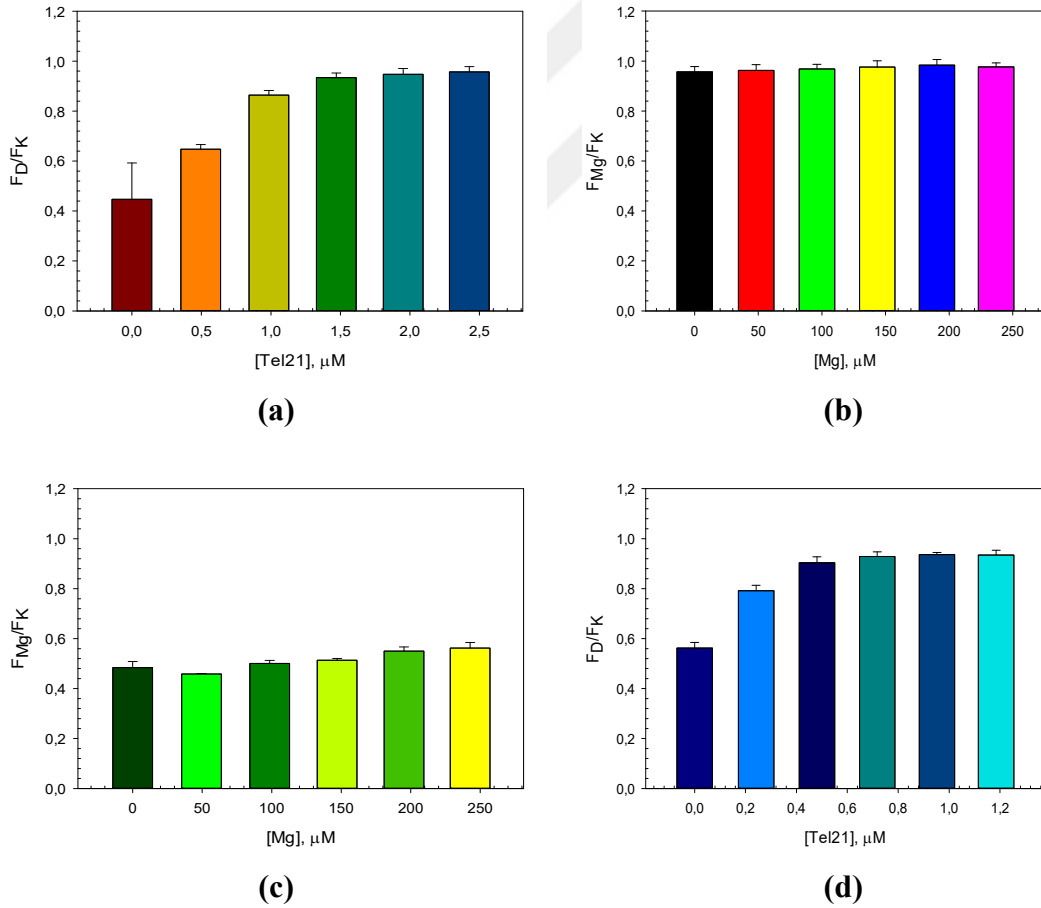


**Şekil 4.19** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **AS1411** etkisi, (b) KN-Fs+ **AS1411** sistem sinyaline Mg etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Mg etkisi, (d) KN-Fs+ Mg sistem sinyaline **AS1411** etkisi.

**Tel21** varlığında sistemin performansına  $Mg^{2+}$  iyonlarının etkisi şekil 4.20’de ve tablo 4.6’da verilmiştir. 250  $\mu M$   $Mg^{2+}$  iyonlarını yokluğunda ve varlığında ortama 2,5  $\mu M$  **Tel21** eklendiğinde sinyal kazanım verileri  $0,957\pm0,020$  ve  $0,934\pm0,020$  olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.6**  $Mg^{2+}$  iyonlarının **Tel21** belirlenmesine etkisi

|         |     | $Mg^{2+}$   |             |             |             |
|---------|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|
| $\mu M$ |     | 0           | 250         | 0           | 250         |
| Tel21   | 0   | 0,447±0,146 | -           | 0,484±0,024 | 0,562±0,023 |
|         | 2,5 | 0,957±0,020 | 0,977±0,016 | -           | 0,934±0,020 |

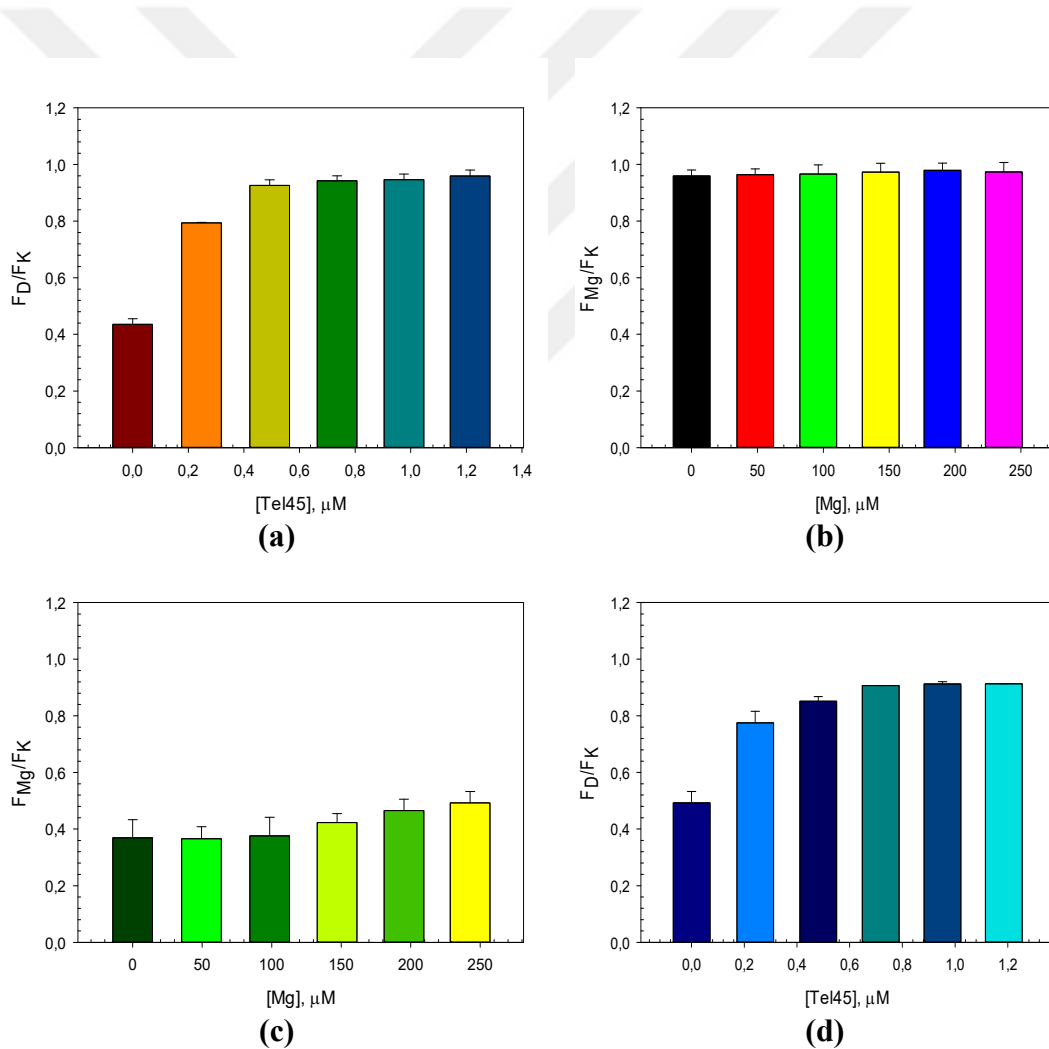


**Şekil 4.20** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **Tel21** etkisi, (b) KN-Fs+ **Tel21** sistem sinyaline  $Mg$  etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline  $Mg$  etkisi, (d) KN-Fs+  $Mg$  sistem sinyaline **Tel21** etkisi.

**Tel45** varlığında sistemin performansına  $Mg^{2+}$  iyonlarının etkisi şekil 4.21’de ve tablo 4.7’ de verilmiştir. 250  $\mu M$   $Mg^{2+}$  iyonlarını yokluğunda ve varlığında ortama 2,5  $\mu M$  **Tel45** eklendiğinde sinyal kazanım verileri  $0,959\pm0,021$  ve  $0,913\pm0,001$  olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.7**  $Mg^{2+}$  iyonlarının **Tel45** belirlenmesine etkisi

|       |     | Mg <sup>2+</sup> |             |             |             |
|-------|-----|------------------|-------------|-------------|-------------|
| μM    |     | 0                | 250         | 0           | 250         |
| Tel45 | 0   | 0,435±0,020      | -           | 0,369±0,064 | 0,492±0,040 |
|       | 2,5 | 0,959±0,021      | 0,974±0,033 | -           | 0,913±0,001 |

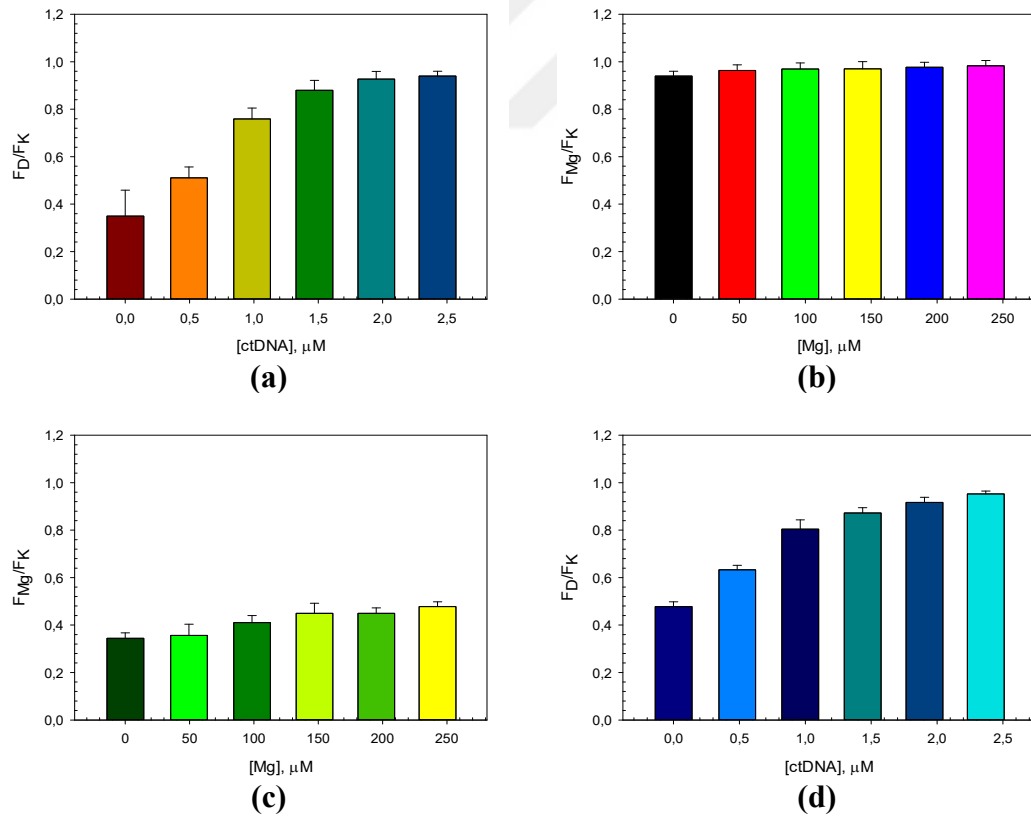


**Şekil 4.21** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **Tel45** etkisi, (b) KN-Fs+ **Tel45** sistem sinyaline Mg etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Mg etkisi, (d) KN-Fs+ Mg sistem sinyaline **Tel45** etkisi.

Şekil 4.22’de ve tablo 4.8’de geliştirilen kuantum nokta entegre sistemle **ctDNA** belirlenmesi üzerine magnezyum iyonunun etkisi görülmektedir. Geliştirilen biyosensör  $Mg^{2+}$  varlığında sinyal değişimine neden olmasına rağmen (sinyal geri kazanımı  $0,344\pm0,023$  dan  $0,477\pm0,021$ ’e değişmiştir)  $250\ \mu M$  varlığında **ctDNA** nın  $0-2,5\ \mu M$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,477\pm0,021$  dan  $0,953\pm0,012$ ’e artırmıştır. Sinyal geri kazanımları  $Mg^{2+}$  yokluğunda ve varlığında  $2,5\ \mu M$  **ctDNA** için sırası ile  $0,940\pm0,020$  ve  $0,953\pm0,012$ ’dir.

**Tablo 4.8**  $Mg^{2+}$  iyonlarının **ctDNA** belirlenmesine etkisi

|       |     | Mg <sup>2+</sup> |             |             |             |
|-------|-----|------------------|-------------|-------------|-------------|
| μM    |     | 0                | 250         | 0           | 250         |
| ctDNA | 0   | 0,350±0,109      | -           | 0,344±0,023 | 0,477±0,021 |
|       | 2,5 | 0,940±0,020      | 0,983±0,022 | -           | 0,953±0,012 |



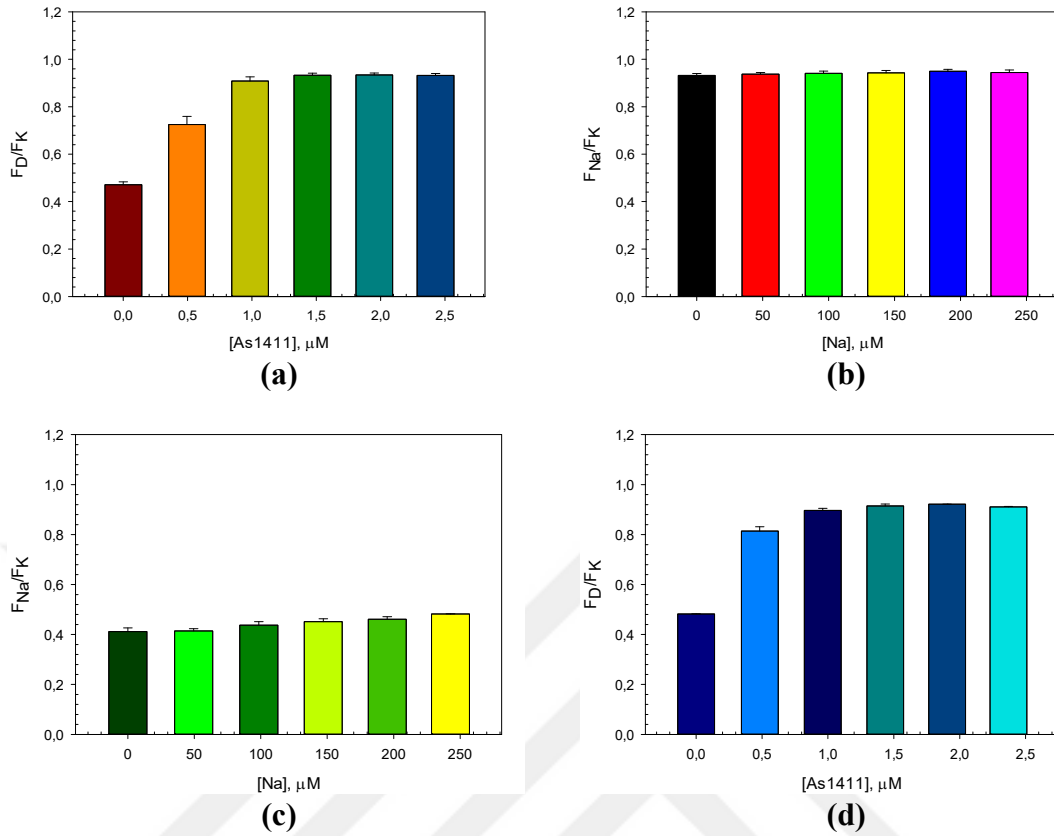
**Şekil 4.22** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **ctDNA** etkisi, (b) KN-Fs+ **ctDNA** sistem sinyaline Mg etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Mg etkisi, (d) KN-Fs+ Mg sistem sinyaline **ctDNA** etkisi.

#### 4.4.3. Biyosensor Performansına Sodyum İyonunun Etkisi

Şekil 4.23’de geliştirilen kuantum nokta entegre sisteme sodyum iyonlarının etkisi görülmektedir. Şekil 4.23.a’da ve tablo 4.9’da entegre sistemin **As1411** ilavesi ile sinyal kazanımı görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu\text{M}$  **As1411** varlığında 100 kat oranında  $\text{Na}^+$  ilavesi ile sinyal kazanımının önemli bir şekilde değişmediği gözlenmiştir (şekil 4.23.b sinyal geri kazanımı  $0,932 \pm 0,008$  den  $0,944 \pm 0,011$  olarak değişmiştir). 250  $\mu\text{M}$   $\text{Na}^+$  varlığında **As1411** in 0-2,5  $\mu\text{M}$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,482 \pm 0,001$  dan  $0,911 \pm 0,002$ ’ye artırmıştır. Sinyal geri kazanımları  $\text{Na}^+$  yokluğunda ve varlığında 2,5  $\mu\text{M}$  **As1411** için benzer sonuçlar vermiştir (sırası ile  $0,932 \pm 0,008$  ve  $0,911 \pm 0,002$ ’dir).

**Tablo 4.9**  $\text{Na}^+$  iyonlarının **As1411** belirlenmesine etkisi

|               |     | $\text{Na}^+$     |                   |                   |                   |
|---------------|-----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|               |     | 0                 | 250               | 0                 | 250               |
| <b>As1411</b> | 0   | $0,471 \pm 0,012$ | -                 | $0,412 \pm 0,015$ | $0,482 \pm 0,001$ |
|               | 2,5 | $0,932 \pm 0,008$ | $0,944 \pm 0,011$ | -                 | $0,911 \pm 0,002$ |

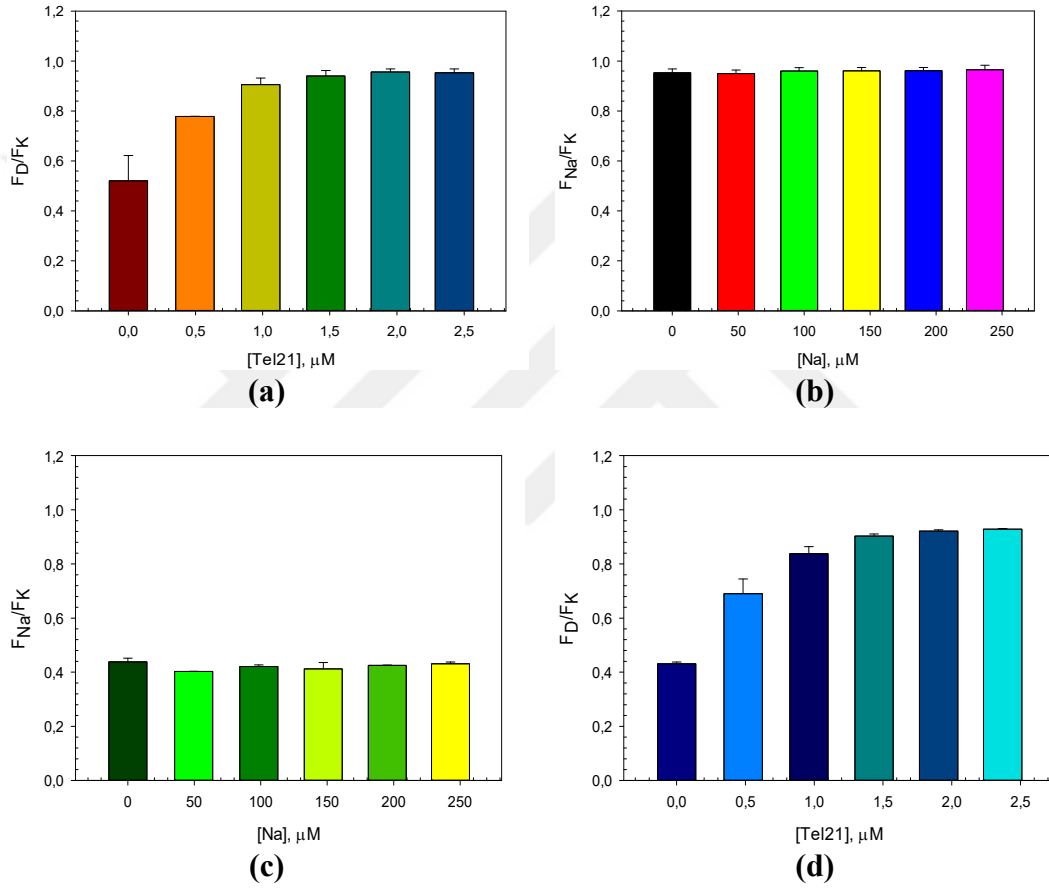


**Şekil 4.23 (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline AS1411 etkisi, (b) KN-Fs+ AS1411 sistem sinyaline Na etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Na etkisi, (d) KN-Fs+ Na sistem sinyaline AS1411 etkisi.**

Şekil 4.24’de ve tablo 4.10’ da geliştirilen kuantum nokta entegre sistem ile **Tel21** tayininde sodyum iyonlarının etkisi görülmektedir. Şekil 4.24.a’da entegre sistemin **Tel21** ilavesi ile sinyal kazanımı görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu M$  **Tel21** varlığında 100 kat oranında  $Na^+$  ilavesi ile sinyal kazanımının önemli bir şekilde değişmediği gözlenmiştir (sinyal kazanımı  $0,953 \pm 0,015$  den  $0,965 \pm 0,018$ ’e değişmiştir). Ayrıca geliştirilen biyosensör  $Na^+$  varlığında sinyal değişimine neden olmamaktadır. **Tel21** yokken 0-250  $\mu M$   $Na^+$  aralığında sinyal kazanımları  $0,438 \pm 0,014$  ve  $0,431 \pm 0,007$  dir. 250  $\mu M$  varlığında **Tel21** in 0-2,5  $\mu M$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,431 \pm 0,007$  den  $0,929 \pm 0,002$  e artırmıştır. Sinyal geri kazanımları  $Na^+$  yokluğunda ve varlığında 2,5  $\mu M$  **Tel21** için sırası ile  $0,953 \pm 0,015$  ve  $0,929 \pm 0,002$ ’dir).

**Tablo 4.10** Na<sup>+</sup> iyonlarının Tel21 belirlenmesine etkisi

|       |     | Na <sup>+</sup> |             |             |             |             |
|-------|-----|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       |     | μM              | 0           | 250         | 0           | 250         |
| Tel21 | 0   |                 | 0,521±0,101 | -           | 0,438±0,014 | 0,431±0,007 |
|       | 2,5 |                 | 0,953±0,015 | 0,965±0,018 | -           | 0,929±0,002 |



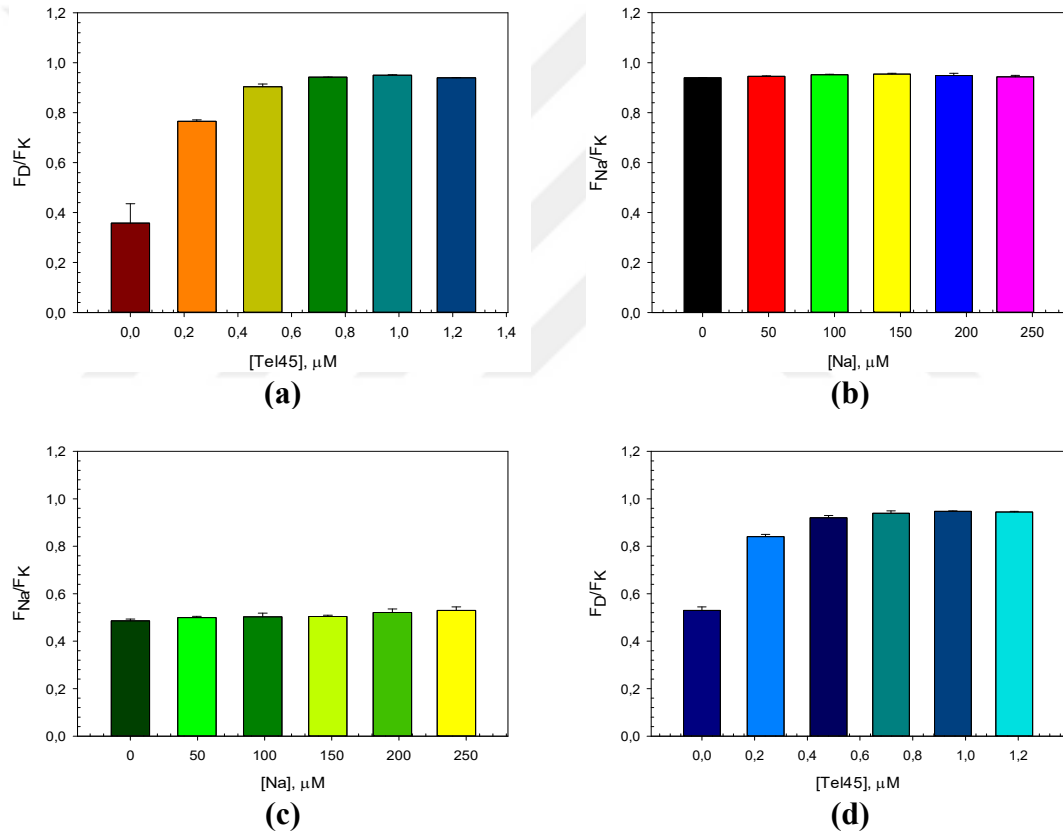
**Şekil 4.24** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Tel21 etkisi, (b) KN-Fs+ Tel21 sistem sinyaline Na etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Na etkisi, (d) KN-Fs+ Na sistem sinyaline Tel21 etkisi.

Şekil 4.25’de ve tablo 4.11’ de geliştirilen kuantum nokta entegre sistemle Tel45 tayininde sodyum iyonlarının etkisi görülmektedir. Şekil 4.25.a’da entegre sistemin Tel45 ilavesi ile sinyal kazanımı görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu\text{M}$  Tel45 varlığında 100 kat oranında Na<sup>+</sup> ilavesi ile sinyal kazanımının önemli bir şekilde değişmediği gözlenmiştir (sinyal kazanımı 0,940±0,001den 0,943±0,006’e değişmiştir). Ayrıca geliştirilen biyosensör Na<sup>+</sup> varlığında sinyal değişimine neden olmamaktadır. Tel45

yokken 0-250  $\mu\text{M}$   $\text{Na}^+$  aralığında sinyal kazanımları  $0,486\pm0,007$  ve  $0,529\pm0,015$  tir. 250  $\mu\text{M}$  varlığında **Tel45** in 0-2,5  $\mu\text{M}$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,529\pm0,015$  den  $0,944\pm0,003$  e artırmıştır. Sinyal geri kazanımları  $\text{Na}^+$  yokluğunda ve varlığında 2,5  $\mu\text{M}$  **Tel45** için sırası ile  $0,940\pm0,001$  ve  $0,944\pm0,003$ 'dür.

**Tablo 4.11**  $\text{Na}^+$  iyonlarının **Tel45** belirlenmesine etkisi

|       |     | Na <sup>+</sup> |             |             |             |             |
|-------|-----|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       |     | μM              | 0           | 250         | 0           | 250         |
| Tel45 | 0   |                 | 0,358±0,077 | -           | 0,486±0,007 | 0,529±0,015 |
|       | 2,5 |                 | 0,940±0,001 | 0,943±0,006 | -           | 0,944±0,003 |



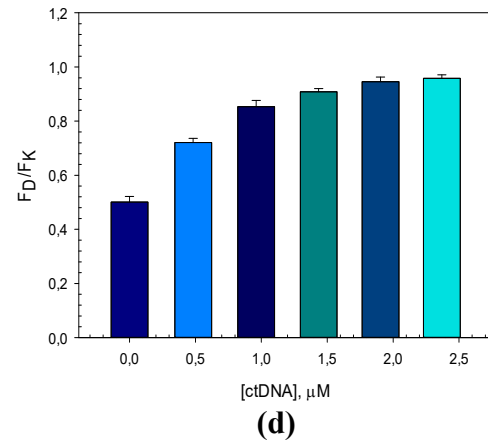
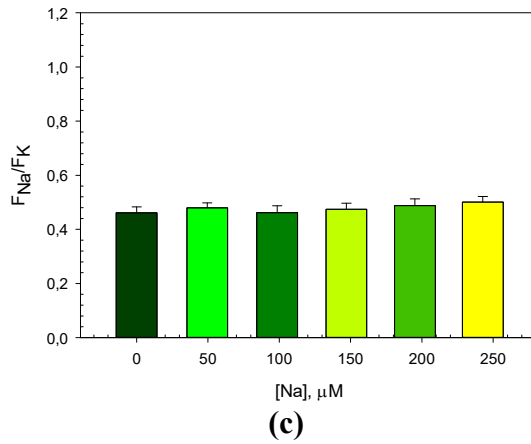
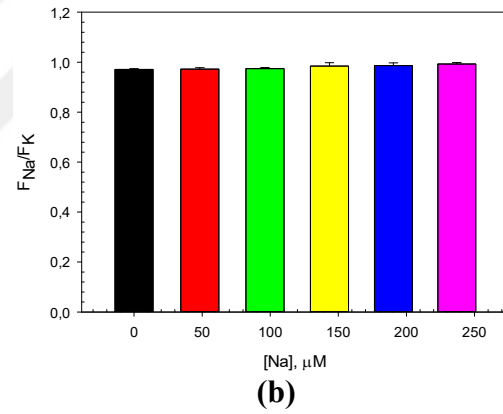
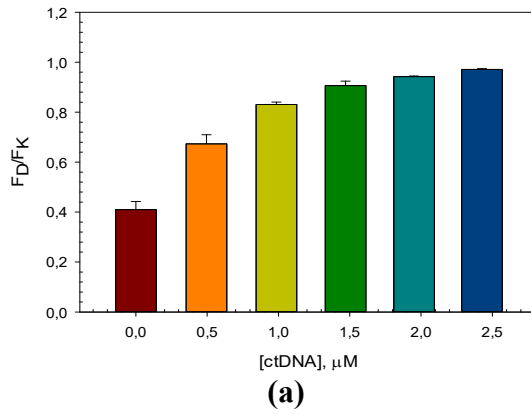
**Şekil 4.25** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **Tel45** etkisi, (b) KN-Fs+ **Tel45** sistem sinyaline Na etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Na etkisi, (d) KN-Fs+ Na sistem sinyaline **Tel45** etkisi.

Şekil 4.26'da ve tablo 4.12'de geliştirilen kuantum nokta entegre sistemle **ctDNA** tayininde sodyum iyonlarının etkisi görülmektedir. Şekil 4.26.a'da entegre sistemin **ctDNA** ilavesi ile sinyal kazanımı görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu\text{M}$  **ctDNA** varlığında 100 kat oranında  $\text{Na}^+$  ilavesi ile sinyal kazanımı  $0,971\pm0,003$ den  $0,993\pm0,006$ 'e

değişmiştir. Ayrıca geliştirilen biyosensör  $\text{Na}^+$  varlığında sinyal değişimine neden olmamaktadır. **ctDNA** yokken 0-250  $\mu\text{M}$   $\text{Na}^+$  aralığında sinyal kazanımları  $0,461 \pm 0,022$  ve  $0,501 \pm 0,021$  dir. 250  $\mu\text{M}$  varlığında **ctDNA**'nın 0-2,5  $\mu\text{M}$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,501 \pm 0,021$  den  $0,958 \pm 0,013$  e artırmıştır. Sinyal geri kazanımları  $\text{Na}^+$  yokluğunda ve varlığında 2,5  $\mu\text{M}$  **ctDNA** için sırası ile  $0,971 \pm 0,003$  ve  $0,958 \pm 0,013$ 'dir.

**Tablo 4.12**  $\text{Na}^+$  iyonlarının **ctDNA** belirlenmesine etkisi

|       |     | Na <sup>+</sup> |             |             |             |
|-------|-----|-----------------|-------------|-------------|-------------|
|       | μM  | 0               | 250         | 0           | 250         |
| ctDNA | 0   | 0,410±0,032     | -           | 0,461±0,022 | 0,501±0,021 |
|       | 2,5 | 0,971±0,003     | 0,993±0,006 | -           | 0,958±0,013 |



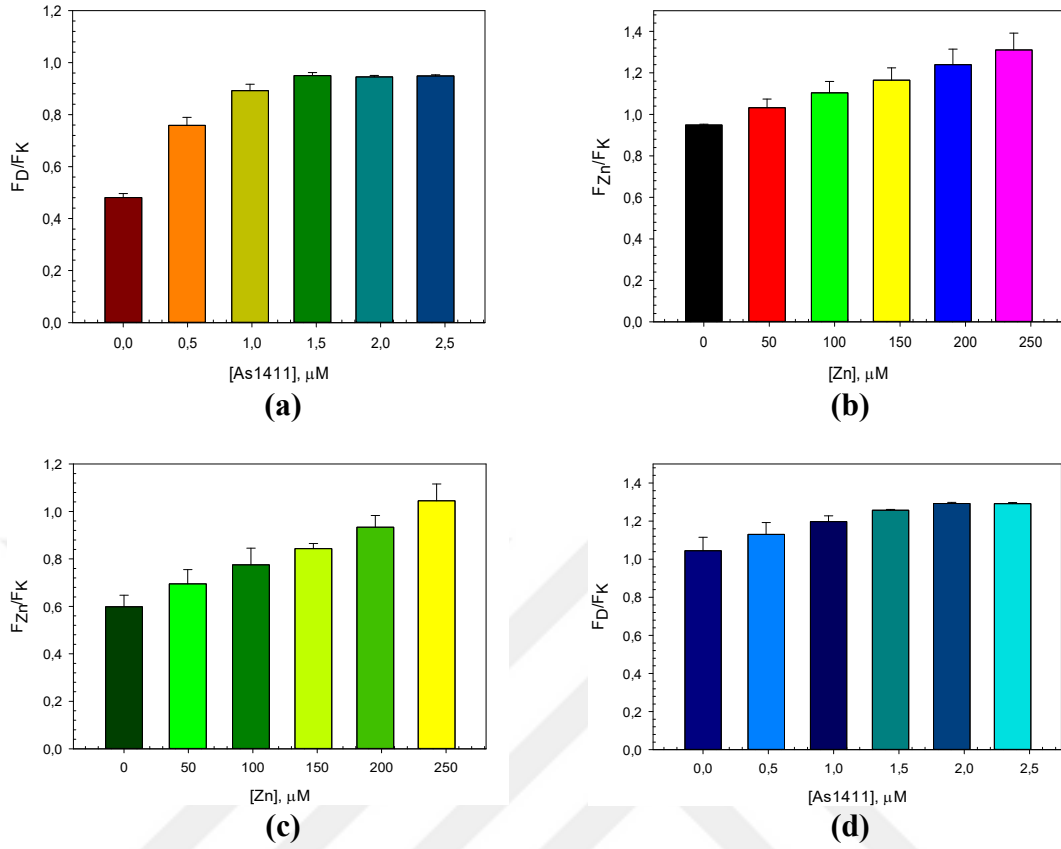
**Şekil 4.26** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **ctDNA** etkisi, (b) KN-Fs+ **ctDNA** sistem sinyaline  $\text{Na}$  etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline  $\text{Na}$  etkisi, (d) KN-Fs+  $\text{Na}$  sistem sinyaline **ctDNA** etkisi.

#### 4.4.4. Biyosensor Performansına Çinko İyonunun Etkisi

Şekil 4.27-Şekil 4.30'da ve tablo 4.13-tablo 4.16'da geliştirilen kuantum nokta entegre sisteme magnezyum iyonunun etkisi görülmektedir. Şekilden görüldüğü üzere çalışılan derişim aralığında  $Zn^{2+}$  iyonu biyosensör cevabına etki etmektedir. Buna rağmen  $Zn^{2+}$  varlığında DNA türleri sinyali artırabilmektedir. Yani yüksek Zn derişimine rağmen DNA türleri belirlenmesi olasıdır. Bu şekiller incelendiğinde geliştirilen biyosensörün biyolojik ortamlarda  $Zn^{2+}$  tayini içinde kullanılabileceğini göstermektedir. Fakat bu konu tezin amaç ve kapsamı dışında olduğundan ayrı bir çalışma olarak araştırılabilir.

**Tablo 4.13**  $Zn^{2+}$  iyonlarının As1411 belirlenmesine etkisi

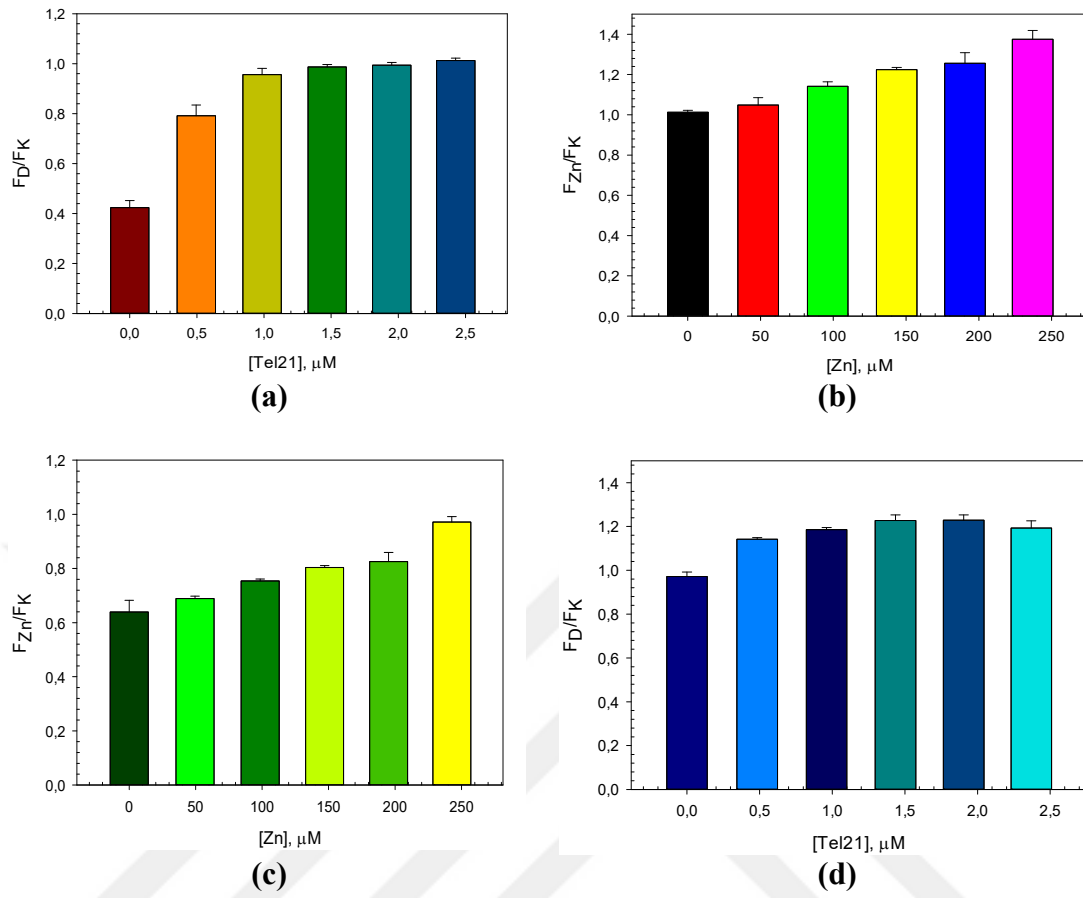
|        |     | Zn <sup>2+</sup> |             |             |             |
|--------|-----|------------------|-------------|-------------|-------------|
| μM     |     | 0                | 250         | 0           | 250         |
| AS1411 | 0   | 0,481±0,016      | -           | 0,599±0,048 | 1,045±0,071 |
|        | 2,5 | 0,949±0,004      | 1,311±0,080 | -           | 1,292±0,006 |



Şekil 4.27 (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline AS1411 etkisi, (b) KN-Fs+ AS1411 sistem sinyaline Zn etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Zn etkisi, (d) KN-Fs+ Zn sistem sinyaline AS1411 etkisi.

Tablo 4.14  $Zn^{2+}$  iyonlarının Tel21 belirlenmesine etkisi

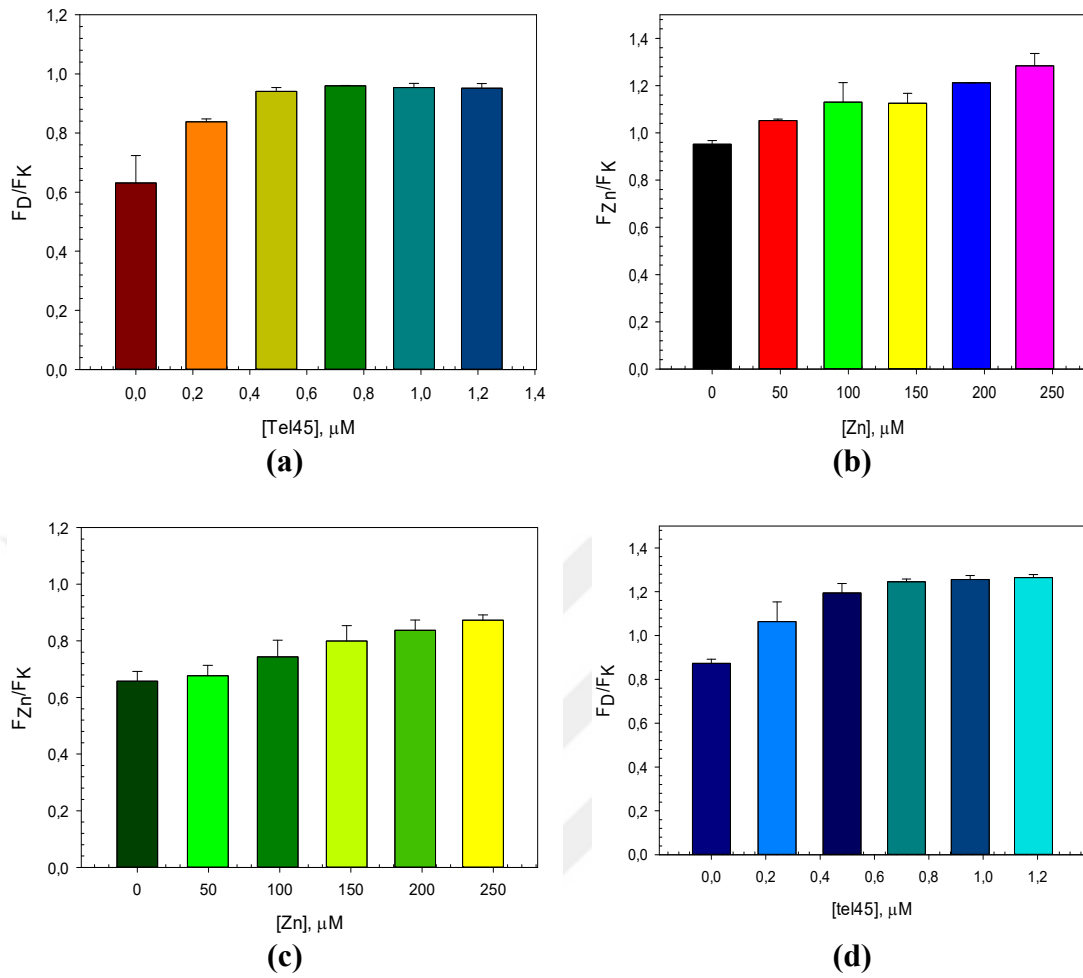
|       |     | $Zn^{2+}$ |             |             |             |             |
|-------|-----|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       |     | $\mu M$   | 0           | 250         | 0           | 250         |
| Tel21 | 0   |           | 0,424±0,028 | -           | 0,640±0,043 | 0,972±0,020 |
|       | 2,5 |           | 1,013±0,010 | 1,375±0,044 | -           | 1,193±0,033 |



**Şekil 4.28** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **Tel21** etkisi, (b) KN-Fs+ **Tel21** sistem sinyaline Zn etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Zn etkisi, (d) KN-Fs+ Zn sistem sinyaline **Tel21** etkisi.

**Tablo 4.15**  $\text{Zn}^{2+}$  iyonlarının **Tel45** belirlenmesine etkisi

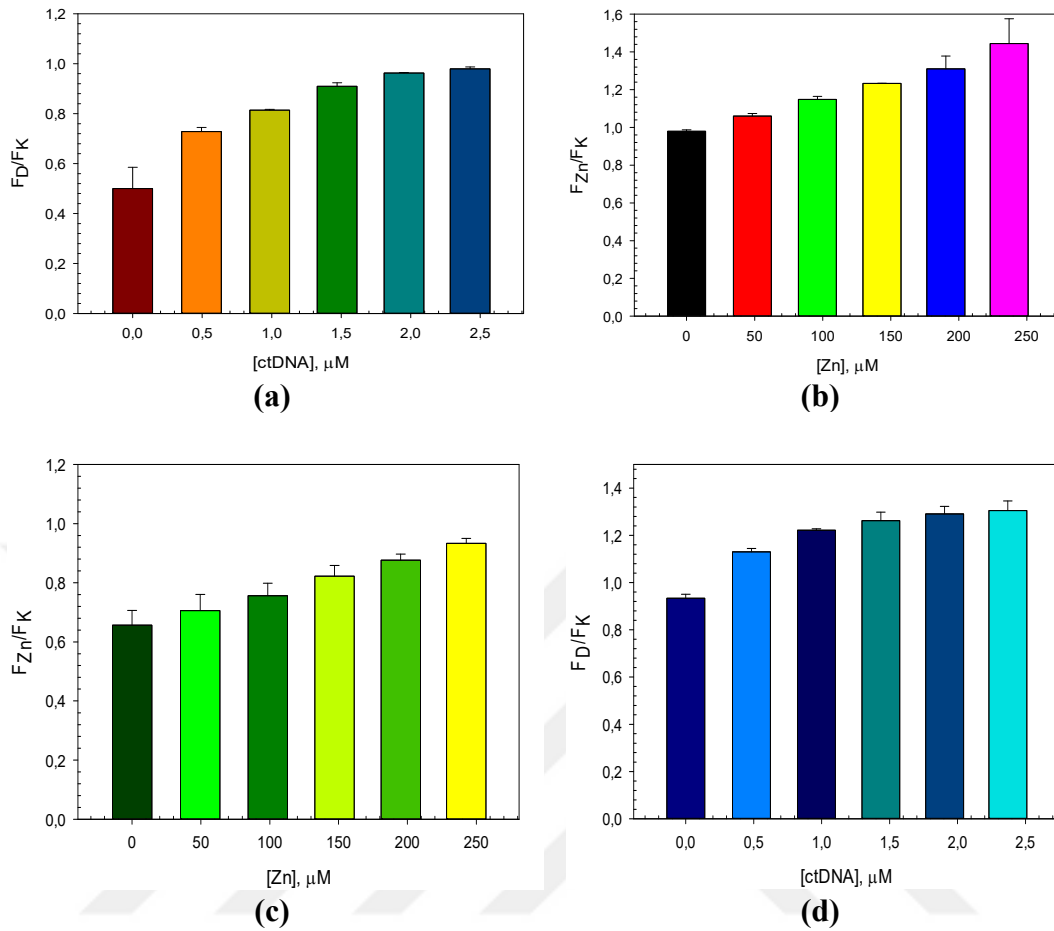
|       |     | $\text{Zn}^{2+}$ |             |             |             |             |
|-------|-----|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       |     | $\mu\text{M}$    | 0           | 250         | 0           | 250         |
| Tel45 | 0   |                  | 0,632±0,092 | -           | 0,658±0,035 | 0,873±0,019 |
|       | 2,5 |                  | 0,952±0,015 | 1,284±0,052 | -           | 1,264±0,014 |



**Şekil 4.29** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **Tel45** etkisi, (b) KN-Fs+ **Tel45** sistem sinyaline Zn etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Zn etkisi, (d) KN-Fs+ Zn sistem sinyaline **Tel45** etkisi.

**Tablo 4.16**  $Zn^{2+}$  iyonlarının **ctDNA** belirlenmesine etkisi

|       |     | $Zn^{2+}$ |             |             |             |             |
|-------|-----|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       |     | $\mu M$   | 0           | 250         | 0           | 250         |
| ctDNA | 0   |           | 0,500±0,086 | -           | 0,657±0,050 | 0,933±0,017 |
|       | 2,5 |           | 0,979±0,008 | 1,444±0,132 | -           | 1,305±0,040 |



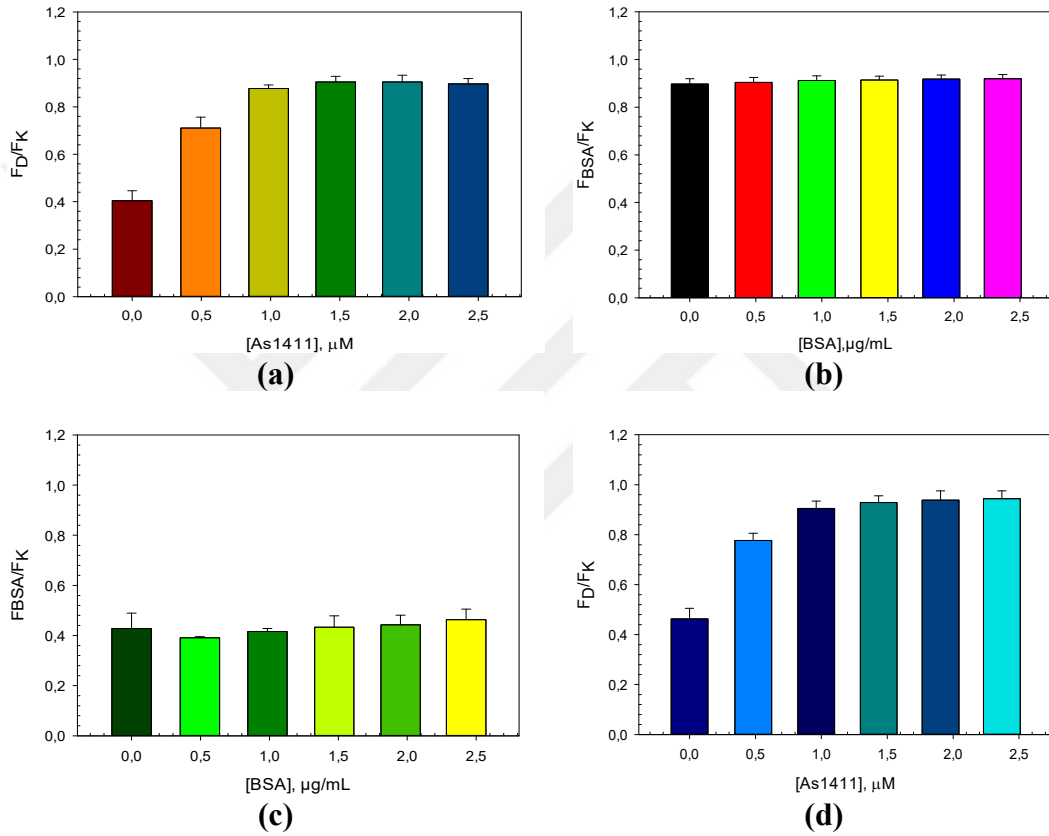
**Şekil 4.30 (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline ctDNA etkisi, (b) KN-Fs+ ctDNA sistem sinyaline Zn etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Zn etkisi, (d) KN-Fs+ Zn sistem sinyaline ctDNA etkisi.**

#### 4.4.5. Biyosensor Performansına Serum Proteini Etkisi

Şekil 4.31’de ve tablo 4.17’ de geliştirilen kuantum nokta entegre sistemle **AS1411** belirlenmesine BSA’nın etkisi görülmektedir. Şekil 4.31.a’da entegre sistemin **AS1411** ilavesi ile sinyal kazanımı görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu M$  **AS1411** varlığında 2,5  $\mu g/mL$  BSA varlığında sinyal kazanımının  $0,897 \pm 0,022$  den  $0,920 \pm 0,017$  olarak değişmiştir. Ayrıca geliştirilen biyosensör BSA varlığında sinyal kazanımı  $0,428 \pm 0,061$  dan  $0,463 \pm 0,042$  olarak değişmiştir. 2,5  $\mu g/mL$  BSA varlığında **AS1411** in 0-2,5  $\mu M$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,463 \pm 0,042$  dan  $0,944 \pm 0,031$  e artırmıştır. Sinyal geri kazanımları BSA yokluğunda ve varlığında 2,5  $\mu M$  **As1411** için aynıdır (sırası ile  $0,897 \pm 0,022$  ve  $0,944 \pm 0,031$ ’dir).

**Tablo 4.17** BSA'nın AS1411 belirlenmesine etkisi

|        |     | BSA         |             |             |             |
|--------|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|
|        | μM  | 0           | 2,5         | 0           | 2,5         |
| AS1411 | 0   | 0,404±0,041 | -           | 0,428±0,061 | 0,463±0,042 |
|        | 2,5 | 0,897±0,022 | 0,920±0,017 | -           | 0,944±0,031 |

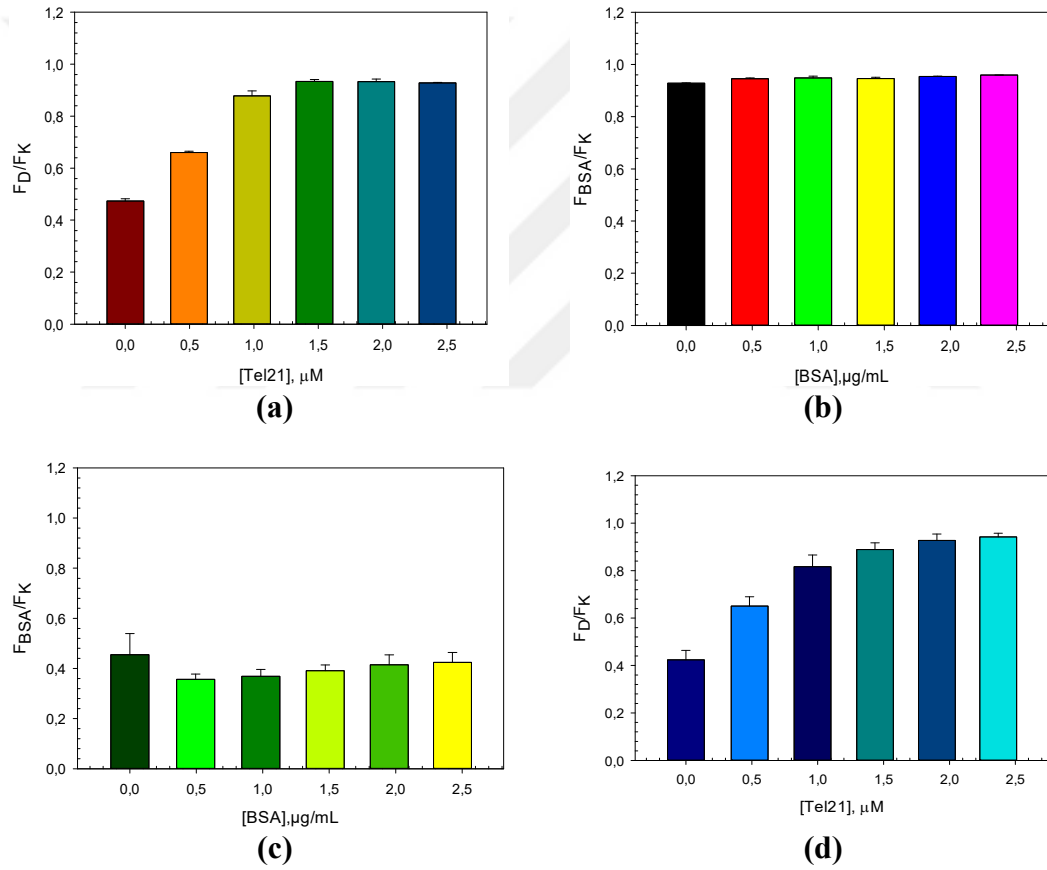
**Şekil 4.31** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline AS1411 etkisi, (b) KN-Fs+AS1411 sistem sinyaline BSA etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline BSA etkisi, (d) KN-Fs+BSA sistem sinyaline AS1411 etkisi

Şekil 4.32’de ve tablo 4.18’ de geliştirilen kuantum nokta entegre sistemle **Tel21** tayinine BSA’nın etkisi görülmektedir. Şekil 4.32.a’da entegre sistemin **Tel21** ilavesi ile sinyal kazanımı görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu\text{M}$  **Tel21** varlığında 2,5  $\mu\text{g/mL}$  BSA ilavesiyle sinyal kazanımı  $0,928 \pm 0,002$  den  $0,960 \pm 0,001$ ’e değişmiştir. Ayrıca geliştirilen biyosensör BSA varlığında sinyal kazanımı  $0,455 \pm 0,084$ ’den  $0,424 \pm 0,040$ ’a değişmiştir. 2,5  $\mu\text{g/mL}$  BSA varlığında **Tel21** in 0-2,5  $\mu\text{M}$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,424 \pm 0,040$ ’dan  $0,942 \pm 0,016$ ’a artırmıştır. 2,5  $\mu\text{M}$  **Tel21**

için sinyal geri kazanımları BSA yokluğunda ve varlığında sırası ile  $0,928 \pm 0,002$  ve  $0,942 \pm 0,016$ 'dir.

**Tablo 4.18** BSA'nın Tel21 belirlenmesine etkisi

|       |     | BSA         |             |             |             |
|-------|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       | μM  | 0           | 2,5         | 0           | 2,5         |
| Tel21 | 0   | 0,474±0,008 | -           | 0,455±0,084 | 0,424±0,040 |
|       | 2,5 | 0,928±0,002 | 0,960±0,001 | -           | 0,942±0,016 |



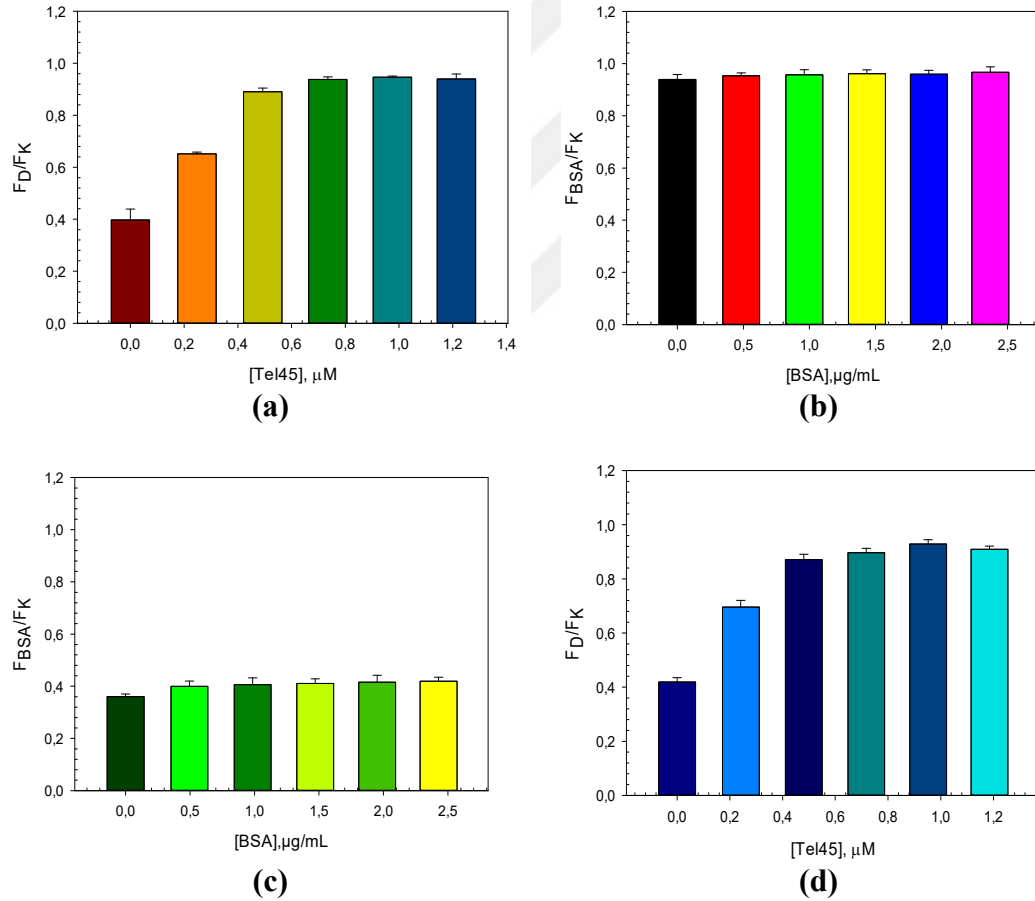
**Şekil 4.32** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline Tel21 etkisi, (b) KN-Fs+Tel21 sistem sinyaline BSA etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline BSA etkisi, (d) KN-Fs+BSA sistem sinyaline Tel21 etkisi

Şekil 4.33'de ve tablo 4.19' da geliştirilen kuantum nokta entegre sistemle Tel45 tayinine BSA'nın etkisi görülmektedir. Şekil 4.33.a'da entegre sistemin Tel45 ilavesi ile sinyal kazanımı görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu\text{M}$  Tel45 varlığında 2,5  $\mu\text{g/mL}$  BSA ilavesiyle sinyal kazanımı  $0,939 \pm 0,019$ 'dan  $0,967 \pm 0,020$ 'ye değişmiştir. Ayrıca

geliştirilen biyosensör BSA varlığında sinyal kazanımı  $0,360 \pm 0,010$  dan  $0,419 \pm 0,016$ 'a değişmiştir. 2,5  $\mu\text{g/mL}$  BSA varlığında **Tel45**'in 0-2,5  $\mu\text{M}$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,419 \pm 0,016$ 'dan  $0,910 \pm 0,012$ 'e artırmıştır. 2,5  $\mu\text{M}$  **Tel45** için sinyal geri kazanımları BSA yokluğunda ve varlığında sırası ile  $0,939 \pm 0,019$  ve  $0,910 \pm 0,012$ 'dir.

**Tablo 4.19** BSA'nın **Tel45** belirlenmesine etkisi

|       |     | BSA         |             |             |             |
|-------|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       | μM  | 0           | 2,5         | 0           | 2,5         |
| Tel45 | 0   | 0,397±0,042 | -           | 0,360±0,010 | 0,419±0,016 |
|       | 2,5 | 0,939±0,019 | 0,967±0,020 | -           | 0,910±0,012 |



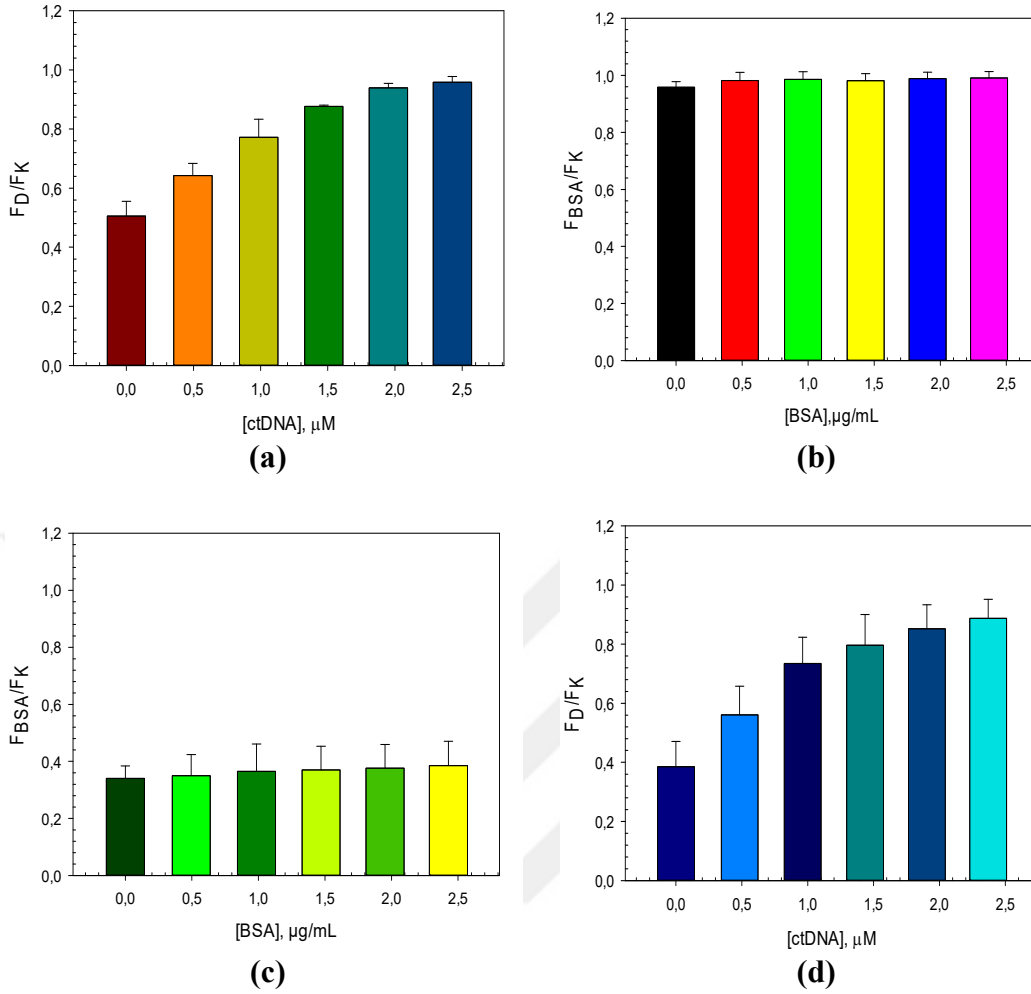
**Şekil 4.33** (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline **Tel45** etkisi, (b) KN-Fs+**Tel45** sistem sinyaline BSA etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline BSA etkisi, (d) KN-Fs+BSA sistem sinyaline **Tel45** etkisi

Şekil 4.34'de geliştirilen kuantum nokta entegre sistemle ctDNA tayinine BSA'nın etkisi görülmektedir. Şekil 4.34.a'da ve tablo 4.20'de entegre sistemin **ctDNA** ilavesi

ile sinyal kazanımı görülmektedir. Ortamda 2,5  $\mu\text{M}$  **ctDNA** varlığında 2,5  $\mu\text{g/mL}$  BSA ilavesiyle sinyal kazanımı  $0,958 \pm 0,020$ 'dan  $0,991 \pm 0,023$ 'e değişmiştir. Ayrıca geliştirilen biyosensör BSA varlığında sinyal kazanımı  $0,341 \pm 0,044$ 'ten  $0,385 \pm 0,085$ 'e değişmiştir. 2,5  $\mu\text{g/mL}$  BSA varlığında **ctDNA**'nın 0-2,5  $\mu\text{M}$  aralığında artırılması geri kazanımı  $0,385 \pm 0,085$ 'ten  $0,887 \pm 0,065$ 'e artırmıştır. 2,5  $\mu\text{M}$  **ctDNA** için sinyal geri kazanımları BSA yokluğunda ve varlığında sırası ile  $0,958 \pm 0,020$  ve  $0,887 \pm 0,065$ 'dir.

**Tablo 4.20** BSA'nın **ctDNA** belirlenmesine etkisi

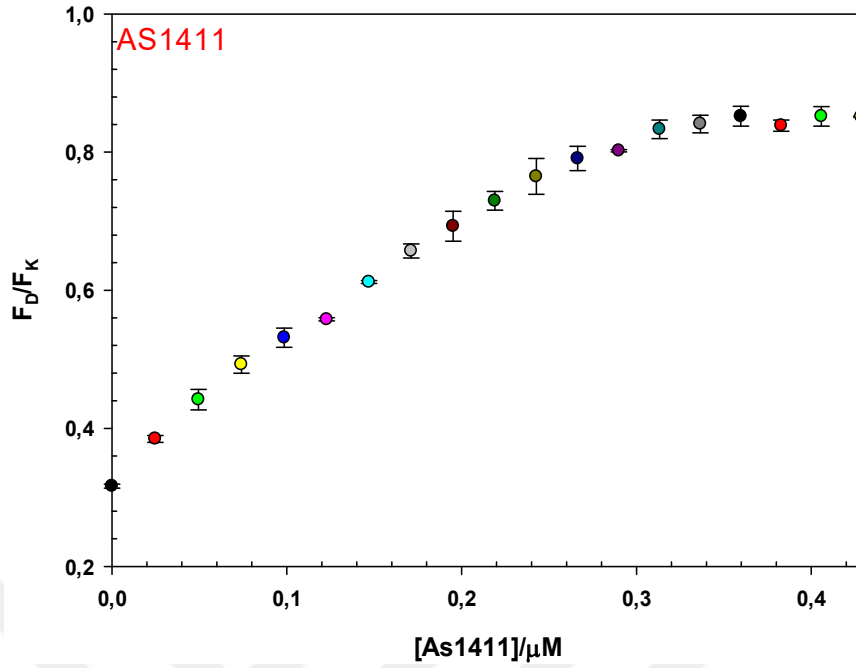
|       |     | BSA           |             |             |             |             |
|-------|-----|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       |     | $\mu\text{M}$ | 0           | 2,5         |             |             |
| ctDNA | 0   |               | 0,506±0,050 | -           | 0,341±0,044 | 0,385±0,085 |
|       | 2,5 |               | 0,958±0,020 | 0,991±0,023 | -           | 0,887±0,065 |



**Şekil 4.34 (a) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline ctDNA etkisi, (b) KN-Fs+ctDNA sistem sinyaline BSA etkisi, (c) KN-Fs entegre biyosensör sinyaline BSA etkisi, (d) KN-Fs+BSA sistem sinyaline ctDNA etkisi**

#### 4.5. Analitik Performans Özellikleri

Geliştirilen biyosensörün **AS1411**, **Tel21**, **Tel45** ve **ctDNA** belirlenmesine yönelik analitik özellikleri araştırılmıştır. Şekil 4.35’de görüldüğü gibi, **AS1411** derişimi arttıkça sinyal kazanımı yaklaşık 0,32  $\mu$  derişimine kadar doğrusal olarak artmaktadır. Doğrusallığın sağlandığı bölge için çeşitli analitik özellikler hesaplanarak tablo 4.21’de verilmiştir. Tablodan görüldüğü gibi, yöntem geniş bir derişim aralığında düşük bağıl standart sapma ya sahiptir (<%5). Aynı zamanda yöntemin gözlenebilme ve tayin sınırları da sırası ile 0,055  $\mu\text{M}$  ve 0,18  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.



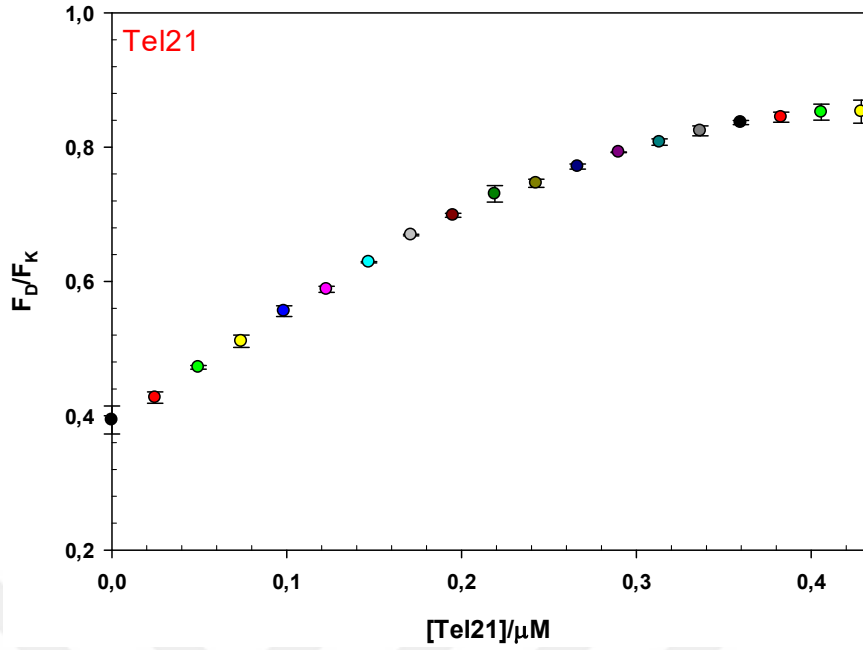
Şekil 4.35 Geliştirilen biyosensörün AS1411 için kalibrasyon doğrusu

Tablo 4.21 Geliştirilen biyosensörün AS1411 belirlenmesine yönelik performans özellikleri

|                              |                                                       |
|------------------------------|-------------------------------------------------------|
| Kalibrasyon grafiği denklemi | $y = 1,37E+00x + 4,07E-01$<br>(0-0,32 $\mu\text{M}$ ) |
| $r^2$                        | 9,56E-01                                              |
| $3S_b/m$                     | 0,055                                                 |
| $10 S_b/m$                   | 0,18                                                  |
| %BSS (0,02 $\mu\text{M}$ )   | 1,34                                                  |
| %BSS (0,20 $\mu\text{M}$ )   | 3,12                                                  |
| %BSS (0,31 $\mu\text{M}$ )   | 1,61                                                  |

m: Kalibrasyon grafiğinin eğimi, BSS: Bağıl standart sapma, Sb: boş denemelerin standart sapması (n=20)

Tel21 tayini için, geliştirilen kuantum nokta entegre biyosensör sisteminin analitik özellikleri şekil 4.36 ve tablo 4.22’de verilmiştir. Sinyal kazanımı 0-0,36  $\mu\text{M}$  Tel21 derişimi aralığında doğrusaldır ( $r^2>0,96$ ). Bu aralık için hesaplanan gözlenebilme ve tayin sınırları sırası ile 0,061  $\mu\text{M}$  ve 0,20  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. Yöntemin bu aralıktaki üç derişim için bağıl standart sapma değerleri de <%5 olarak bulunmuştur.



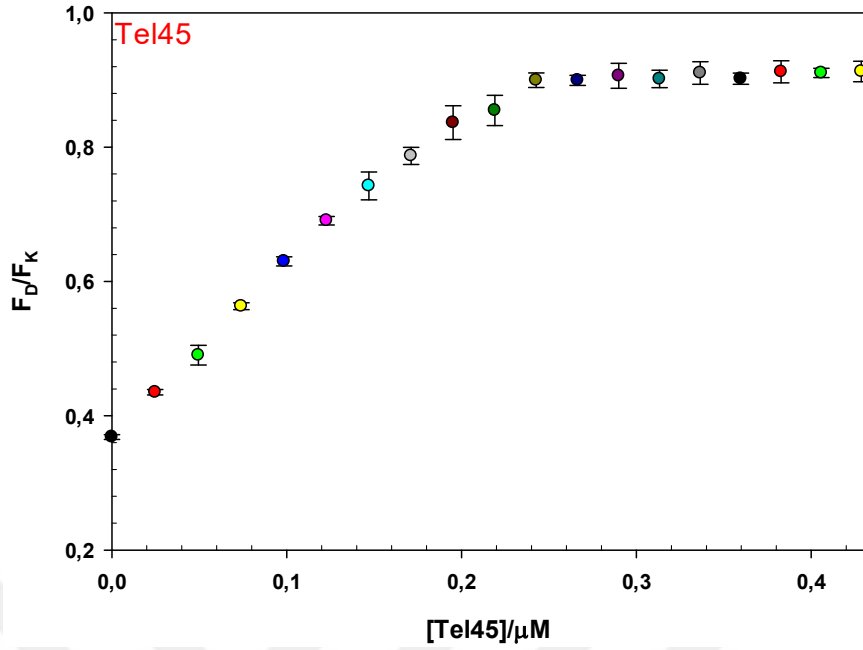
Şekil 4.36 Geliştirilen biyosensörün Tel21 için kalibrasyon doğrusu

Tablo 4.22 Geliştirilen biyosensörün Tel21 belirlenmesine yönelik performans özellikleri

|                              |                                                       |
|------------------------------|-------------------------------------------------------|
| Kalibrasyon grafiği denklemi | $y = 1,22E+00x + 4,29E-01$<br>(0-0,36 $\mu\text{M}$ ) |
| $r^2$                        | 9,69E-01                                              |
| $3S_b/m$                     | 0,061                                                 |
| $10 S_b/m$                   | 0,20                                                  |
| %BSS (0,02 $\mu\text{M}$ )   | 1,99                                                  |
| %BSS (0,20 $\mu\text{M}$ )   | 0,45                                                  |
| %BSS (0,31 $\mu\text{M}$ )   | 0,58                                                  |

m: Kalibrasyon grafiğinin eğimi, BSS: Bağıl standart sapma, Sb: boş denemelerin standart sapması (n=20)

Entegre biyosensörün **Tel45** tayini için analitik performans özellikleri şekil 4.37 ve tablo 4.23’de verilmiştir. Çalışılan şartlarda geliştirilen yöntem, **As1411** ve **Tel21** analitlerine göre daha düşük belirleme ve tayin sınırlarına sahiptir. Yöntemin doğrusal kalibrasyon aralığı ise deneysel şartlarda 0-0,29  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur. %BSS değerleri <%5 olarak bulunmuştur.



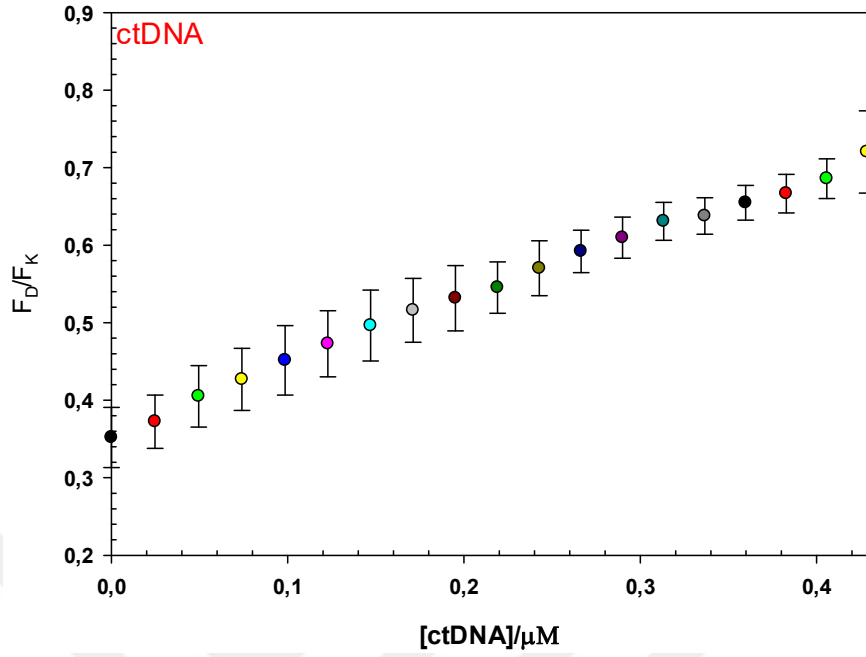
Şekil 4.37 Geliştirilen biyosensörün Tel45 için kalibrasyon doğrusu

Tablo 4.23 Geliştirilen biyosensörün Tel45 belirlenmesine yönelik performans özellikleri

|                              |                                           |
|------------------------------|-------------------------------------------|
| Kalibrasyon grafiği denklemi | $y = 1,95E+00x + 4,15E-01$<br>(0-0,29 μM) |
| $r^2$                        | 9,60E-01                                  |
| 3S <sub>b</sub> /m           | 0,038                                     |
| 10 S <sub>b</sub> /m         | 0,13                                      |
| %BSS (0,02 μM)               | 0,92                                      |
| %BSD (0,20 μM)               | 3,01                                      |
| %BSD (0,29 μM)               | 2,05                                      |

m: Kalibrasyon grafiğinin eğimi, BSS: Bağıl standart sapma, Sb: boş denemelerin standart sapması (n=20)

Geliştirilen entegre biyosensörün **ctDNA** belirlenmesine yönelik analitik performans özellikleri şekil 4.38 ve tablo 4.24’de verilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi **ctDNA** derişimi ile sinyal geri kazanımı geniş bir analit derişimi aralığında doğrusaldır. Öte yandan yöntemin üç farklı derişim için bağıl standart sapmaları incelendiğinde diğer analitlere göre tekrarlanırlık düşüktür. Ayrıca **ctDNA** için belirleme ve tayin sınırları diğer analitlere göre yüksektir (sırası ile 0,091 μM ve 0,30 μM’dır).



**Şekil 4.38** Geliştirilen biyosensörün ctDNA için kalibrasyon doğrusu

**Tablo 4.24** Geliştirilen biyosensörün ctDNA belirlenmesine yönelik performans özellikleri

|                                     |                                           |
|-------------------------------------|-------------------------------------------|
| <b>Kalibrasyon grafiği denklemi</b> | $y = 0,82E+00x + 3,66E-01$<br>(0-0,42 μM) |
| <b>r<sup>2</sup></b>                | 9,90E-01                                  |
| <b>3S<sub>b</sub>/m</b>             | 0,091                                     |
| <b>10 S<sub>b</sub>/m</b>           | 0,30                                      |
| <b>%BSS (0,02 μM)</b>               | 9,23                                      |
| <b>%BSD (0,20 μM)</b>               | 7,92                                      |
| <b>%BSD (0,31 μM)</b>               | 3,89                                      |

m: Kalibrasyon grafiğinin eğimi, BSS: Bağıl standart sapma, Sb: boş denemelerin standart sapması (n=20)

#### 4.6. Sentetik Örnekler Üzerinde Uygulama

Geliştirilen ftalosiyanın entegre biyosensörün G-quadrupleks DNA/çift sarmal DNA tayininde kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermek bu çalışmanın ana motivasyonudur. Biyolojik örnek matrisleri inorganik matrislere göre genellikle daha karmaşık ve kalabalıktır. Birçok biyolojik örnek proteinler, mineraller, yapışmaları gibi birçok bileşeni içerir. Hücre lizatları, dokular arası sıvılar gibi kalabalık

ortamların sentetik olarak oluşturulmasında polietilen glikol tercih edilen bir bileşiktir. Bu bileşik biyolojik ortamları temsil eden “molecular crowding agent-moleküler kalabalıklaştırma ajanı” olarak kullanılmaktadır ve biyolojik ortamın kompleks-kalabalık-derişik ortamını temsil ettiği düşünülür (Xue vd., 2007; Kan vd., 2006). Özellikle DNA gibi biyolojik analitlerin safsu-tampon gibi ortamlarda derişimlerinin belirlenebiliyor olması birçok uygulama için sınırlayıcıdır. Çünkü birçok kimyasalın kalabalık bir ortamdaki davranışı safsu ya da tampon ortamlarından oldukça farklıdır. Dolayısıyla bu tarz inorganik ortamların biyolojik matriksi temsil etmesi sınırlı olacağı için çalışma kapsamında PEG ortamında hazırlanmış çeşitli sentetik örneklerde DNA türleri belirlenmiştir. %24 oranında PEG içeren ortamlara **AS1411**, **Tel21**, **Tel45** ve **ctDNA** ilave edilerek sentetik bir biyolojik ortam oluşturulmuştur. Bu numunelerde bulunan analitlerin derişimleri günlük hazırlanan kalibrasyon grafikleri ile belirlenmiştir. Analitlerin bulunan derişimlerinden % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Diğer taraftan biyolojik numunelerde bulunması olası olan  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  iyonları ve bovine serum albümin de içeren PEG ortamları da hazırlanarak analitler ilave edilmiş ve sentetik örnekler hazırlanmıştır.

Analit derişimleri hesaplanırken kalibrasyon grafikleri ile birlikte matriks sinyalinin etkisi toplam youden boşu (total youden blank) yöntemi ile hesaplamalar gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.25 de **AS1411**, Tablo 4.26’da **Tel21**, Tablo 4.27’de **Tel45** ve Tablo 4.28’de **ctDNA** için farklı sentetik biyolojik ortamlarda geri kazanım değerleri görülmektedir. Her dört analit içinde 0,05 mikromolar derişimleri için geri kazanım değerleri düşük bulunmuştur. Fakat daha yüksek derişimlerde hem geri kazanımlar hemde kesinlik değerleri kabul edilebilirdir. Öte yandan, **AS1411** derişimleri iki farklı sentetik örnek ortamında da direk kalibrasyon grafiği yardımı ile okunabilmesine karşın, diğer türler için toplam youden boşu yöntemi kullanılmıştır. Geri kazanım değerleri daha önceki bölümde verilen lineer kalibrasyonun sağlandığı aralıklarda istisna değerler dışında %90-110 aralığında bulunmuştur.

**Tablo 4.25** Geliştirilen biyosensör ile sentetik örneklerde **AS1411** tayini

| <b>AS1411,<br/>μM</b> | <b>Sadece PEG 8000</b> |   |      | <b>PEG 8000+ Olası matriks türleri</b> |   |       |
|-----------------------|------------------------|---|------|----------------------------------------|---|-------|
|                       | <b>Geri kazanım</b>    |   |      | <b>Geri kazanım</b>                    |   |       |
| 0,05                  | 59,41                  | ± | 7,41 | -16,60                                 | ± | 10,43 |
| 0,10                  | 67,46                  | ± | 5,74 | 43,32                                  | ± | 0,25  |
| 0,15                  | 76,15                  | ± | 9,17 | 62,02                                  | ± | 3,41  |
| 0,19                  | 82,16                  | ± | 9,10 | 80,61                                  | ± | 3,58  |
| 0,24                  | 94,50                  | ± | 6,56 | 84,29                                  | ± | 2,67  |
| 0,29                  | 95,92                  | ± | 8,06 | 92,57                                  | ± | 4,87  |
| 0,33                  | 99,06                  | ± | 5,95 | 91,45                                  | ± | 5,08  |
| 0,38                  | 101,68                 | ± | 1,69 | 89,82                                  | ± | 2,58  |
| 0,43                  | 100,15                 | ± | 2,64 | 91,32                                  | ± | 2,45  |
| 0,47                  | 93,65                  | ± | 3,56 | 89,57                                  | ± | 2,67  |
| 0,52                  | 86,72                  | ± | 3,49 | 87,73                                  | ± | 1,77  |
| 0,56                  | 80,15                  | ± | 3,44 | 82,92                                  | ± | 1,20  |
| 0,60                  | 73,54                  | ± | 2,67 | 78,36                                  | ± | 0,88  |
| 0,65                  | 68,51                  | ± | 2,80 | 72,99                                  | ± | 0,76  |
| 0,69                  | 62,95                  | ± | 2,27 | 68,62                                  | ± | 0,91  |

±ortalamanın standart hatası, n=3.

Tablo 4.26’da **Tel21** için sentetik örneklerde geri kazanım değerleri görülmektedir. Geri kazanım değerleri istisnai veriler dışında kantitatifdir.

**Tablo 4.26** Geliştirilen biyosensör ile sentetik örneklerde **Tel21** tayini

| <b>Tel21, <math>\mu</math>M</b> | <b>Sadece PEG 8000</b> | <b>PEG 8000+ Olası matriks türleri</b> |
|---------------------------------|------------------------|----------------------------------------|
|                                 | <b>Geri kazanım*</b>   | <b>Geri kazanım*</b>                   |
| 0,05                            | 86,60 $\pm$ 16,99      | 24,13 $\pm$ 34,65                      |
| 0,10                            | 90,53 $\pm$ 4,34       | 68,85 $\pm$ 11,06                      |
| 0,15                            | 115,72 $\pm$ 9,37      | 97,46 $\pm$ 12,49                      |
| 0,19                            | 119,67 $\pm$ 10,00     | 103,32 $\pm$ 12,19                     |
| 0,24                            | 111,30 $\pm$ 10,64     | 107,30 $\pm$ 8,19                      |
| 0,29                            | 111,07 $\pm$ 5,61      | 117,50 $\pm$ 6,98                      |
| 0,33                            | 106,82 $\pm$ 6,51      | 114,68 $\pm$ 3,99                      |
| 0,38                            | 103,68 $\pm$ 5,70      | 115,23 $\pm$ 1,94                      |
| 0,43                            | 109,73 $\pm$ 3,83      | 110,59 $\pm$ 2,14                      |
| 0,47                            | 104,80 $\pm$ 3,63      | 107,20 $\pm$ 3,86                      |
| 0,52                            | 101,46 $\pm$ 3,29      | 100,33 $\pm$ 2,87                      |
| 0,56                            | 94,11 $\pm$ 3,40       | 98,90 $\pm$ 5,45                       |
| 0,60                            | 88,52 $\pm$ 3,26       | 92,99 $\pm$ 4,07                       |
| 0,65                            | 82,77 $\pm$ 3,59       | 87,73 $\pm$ 3,64                       |

$\pm$ ortalamanın standart hatası, n=3, \*toplam youden sıfırı yöntemi kullanılmıştır.

Tablo 4.27’de **Tel45** için sentetik örneklerde geri kazanım değerleri görülmektedir. Geri kazanım değerleri istisnai veriler dışında kantitatifdir. Lineer aralığın dışındaki değerler için ise geri kazanım değerleri genel olarak düşük bulunmuştur.

**Tablo 4.27** Geliştirilen biyosensör ile sentetik örneklerde **Tel45** tayini

| <b>Tel45, µM</b> | <b>Sadece PEG 8000</b> | <b>PEG 8000+ Olası matriks türleri</b> |
|------------------|------------------------|----------------------------------------|
|                  | <b>Geri kazanım*</b>   | <b>Geri kazanım*</b>                   |
| 0,05             | 90,47 ± 13,90          | 72,16 ± 20,83                          |
| 0,10             | 101,62 ± 3,16          | 118,17 ± 7,16                          |
| 0,15             | 102,94 ± 4,02          | 108,22 ± 11,68                         |
| 0,19             | 84,09 ± 5,38           | 100,37 ± 9,11                          |
| 0,24             | 72,46 ± 3,60           | 101,61 ± 9,13                          |
| 0,29             | 61,47 ± 2,66           | 89,07 ± 7,67                           |
| 0,33             | 53,64 ± 2,59           | 77,37 ± 7,41                           |
| 0,38             | 45,64 ± 2,29           | 68,70 ± 6,59                           |
| 0,43             | 41,32 ± 2,12           | 60,76 ± 6,07                           |
| 0,47             | 36,32 ± 1,93           | 55,13 ± 6,23                           |
| 0,52             | 33,19 ± 1,71           | 50,15 ± 4,90                           |
| 0,56             | 29,47 ± 1,58           | 47,02 ± 4,19                           |
| 0,60             | 27,52 ± 1,63           | 43,75 ± 3,97                           |
| 0,65             | 25,20 ± 1,24           | 41,33 ± 3,69                           |
| 0,69             | 23,33 ± 1,10           | 38,53 ± 3,87                           |

±ortalamanın standart hatası, n=3, \*toplam youden sıfırı yöntemi kullanılmıştır.

Tablo 4.28’de **ctDNA** için sentetik örneklerde geri kazanım değerleri görülmektedir. Tablodan hemen hemen tüm derişimlerde kantitatif geri kazanımın sağlandığı gözlenmiştir.

**Tablo 4.28** Geliştirilen biyosensör ile sentetik örneklerde **ctDNA** tayini

| <b>ctDNA, <math>\mu</math>M</b> | <b>Sadece PEG 8000</b> |             | <b>PEG 8000+ Olası matriks türleri</b> |             |
|---------------------------------|------------------------|-------------|----------------------------------------|-------------|
|                                 | <b>Geri kazanım*</b>   |             | <b>Geri kazanım*</b>                   |             |
| 0,05                            | 15,28                  | $\pm$ 17,49 | 74,28                                  | $\pm$ 13,57 |
| 0,10                            | 89,01                  | $\pm$ 22,00 | 105,89                                 | $\pm$ 6,89  |
| 0,15                            | 84,41                  | $\pm$ 12,45 | 110,07                                 | $\pm$ 4,66  |
| 0,19                            | 103,56                 | $\pm$ 13,61 | 106,68                                 | $\pm$ 1,08  |
| 0,24                            | 117,41                 | $\pm$ 17,21 | 100,52                                 | $\pm$ 2,33  |
| 0,29                            | 114,99                 | $\pm$ 13,73 | 107,03                                 | $\pm$ 3,79  |
| 0,33                            | 118,22                 | $\pm$ 12,65 | 104,57                                 | $\pm$ 0,79  |
| 0,38                            | 116,63                 | $\pm$ 8,43  | 99,51                                  | $\pm$ 1,11  |
| 0,43                            | 115,58                 | $\pm$ 10,06 | 99,22                                  | $\pm$ 1,91  |
| 0,47                            | 115,87                 | $\pm$ 10,26 | 98,60                                  | $\pm$ 1,65  |
| 0,52                            | 112,46                 | $\pm$ 8,80  | 97,86                                  | $\pm$ 0,30  |
| 0,56                            | 110,21                 | $\pm$ 5,29  | 103,69                                 | $\pm$ 3,41  |
| 0,60                            | 107,23                 | $\pm$ 4,40  | 99,38                                  | $\pm$ 0,19  |
| 0,65                            | 106,11                 | $\pm$ 3,88  | 96,64                                  | $\pm$ 0,51  |
| 0,69                            | 101,68                 | $\pm$ 2,94  | 96,70                                  | $\pm$ 1,40  |

$\pm$ ortalamanın standart hatası, n=3, \*toplam youden sıfırı yöntemi kullanılmıştır.

Gerçek örnek analizi uygulamalarında gerçekleştirilen diğer bir uygulama da ise hücre içi ortamında bulunan iyonları belirli derişimlerde içeren farklı derişimlerde **AS1411**, **Tel21**, **Tel45** ve **ctDNA** içeren farklı çözeltiler hazırlayarak DNA türlerinin derişimleri (1  $\mu$ M, 2  $\mu$ M, 3  $\mu$ M, 4  $\mu$ M ) belirlendi. Bulunan DNA derişimlerinden % geri kazanımları hesaplandı (tablo 4. 29). Tablodan görüldüğü üzere hücre ortamını temsil eden sentetik numune ortamında geri kazanım değerleri kantitatifdir.

**Tablo 4.29** Geliştirilen biyosensör ile sentetik hücre içi örneklerinde (memeli hücre ortamı) DNA tayini

|      | % Geri kazanım* |            |             |            |
|------|-----------------|------------|-------------|------------|
|      | As1411          | Tel21      | Tel45       | ctDNA      |
| 1 µM | 79.74±7.71      | 93.51±4.89 | 100.38±4.30 | 60.20±6.94 |
| 2 µM | 91.52±2.07      | 92.71±5.10 | 107.38±0.68 | 85.24±7.09 |
| 3 µM | 99.87±1.68      | 90.27±4.66 | 114.43±7.41 | 86.00±7.09 |
| 4 µM | 89.63±2.19      | 90.56±7.12 | 98.67±8.24  | 80.12±3.62 |

\*Geri kazanım değerlerini hesaplamak için kullanılan derişimler hücre içi çözeltisi ile günlük hazırlanan kalibrasyon grafikleri ile hesaplanmıştır.

## 5. DEĞERLENDİRME VE SONUÇ

Tez kapsamında kuantum nokta ftalosiyanın entegre biyosensör geliştirildi. 4 farklı ftalosiyanın bileşiği ile ön denemeler yapıldı ve biyosensör performansı için en uygun olan **Fs1** bileşiği ile çalışmalar devam edildi. **Fs1**'in kuantum nokta floresans şiddeti sönümlleme çalışmaları gerçekleştirildi ve **Fs1**'in entegre sistem için miktarı optimize edildi. G-quadrupleks DNA ve çift sarmal DNA'ların farklı matriks ortamlarında belirlenebilirliğini test etmek için çeşitli organik ve inorganik türlerin varlığında biyosensör performansı araştırıldı. Öte yandan geliştirilen biyosensörün belirleme ve tayin sınırı, lineer aralık gibi analitik özellikleri araştırıldı. Tüm çalışmalar *in vitro* şartlarda gerçekleştirildi. *In vivo* şartları temsil etmesi için çalışmalar hücre içi biyomolekülleri temsil edecek şekilde PEG ortamında ve PEG+BSA+iyonların bulunduğu sentetik örneklerde araştırıldı.

Tüm yapılan çalışmalar (*in vitro* şartlarda gerçekleştirilmiş olmasına rağmen), geliştirilen biyosensörün *in vivo* şartlarda **As1411**, **Tel21**, **Tel45** ve **ctDNA** tayininde kullanılabilme potansiyelini göstermiştir.

## KAYNAKLAR

- Akkuş, F. (2011). *Nonperifal grup taşıyan benzopirrolük bileşiklerin sentezi, karakterizasyonu ve kompleks oluşumlarının incelenmesi* (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Arslanoğlu, Y. (2004). *Yeni tip çözünür titanyum fitosiyanınların sentezi* (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Asamitsu, S., Bando, T., & Sugiyama, H. (2019). Ligand Design to Acquire Specificity to Intended G-Quadruplex Structures. *Chemistry—A European Journal*, 25(2), 417-430.
- Aykut, U., & Temiz, H. (2006). Biyosensörler ve gıdalarda kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3(51), 51-52.
- Azargun, M., & Fridgen, T. D. (2015). Guanine tetrads: an IRMPD spectroscopy, energy resolved SORI-CID, and computational study of M (9-ethylguanine) 4+(M= Li, Na, K, Rb, Cs) in the gas phase. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(39), 25778-25785.
- Badıllı, U., Mollarasouli, F., Bakırhan, N. K., Ozkan, Y., & Ozkan, S. A. (2020). Role of quantum dots in pharmaceutical and biomedical analysis, and its application in drug delivery. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116013.
- Balasubramanian, S., Hurley, L. H., & Neidle, S. (2011). Targeting G-quadruplexes in gene promoters: a novel anticancer strategy?. *Nature reviews Drug discovery*, 10(4), 261-275.
- Bardajee, G. R., Bayat, M., Nasri, S., & Vancaeyzeele, C. (2018). pH-Responsive fluorescent dye-labeled metal-chelating polymer with embedded cadmium telluride quantum dots for controlled drug release of doxorubicin. *Reactive and Functional Polymers*, 133, 45-56.
- Başlak, C. (2014). *Ağır metal temelli alaşım kuantum nokta yapıların elde edilmesi, optik ve membran özelliklerinin incelenmesi* (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

- Benesi, H. A., & Hildebrand, J. H. J. (1949). A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2703-2707.
- Bochman, M. L., Paeschke, K., & Zakian, V. A. (2012). DNA secondary structures: stability and function of G-quadruplex structures. *Nature Reviews Genetics*, 13(11), 770-780.
- Bulut, Y. (2011, May). Biyosensörlerin Tanımı ve Biyosensörlere Genel Bakış. In *6th International Advanced Technologies Symposium (IATS'11)* (pp. 16-18).
- Chambers, J. P., Arulanandam, B. P., Matta, L. L., Weis, A., & Valdes, J. J. (2008). *Biosensor recognition elements*. Texas Univ at San Antonio Dept of Biology.
- Clark, S. (2005). Colloidal CdSe/ZnS, Pbse and Pbs quantum dots for use in applications.
- Cuadros-Rodriguez, L., Bagur-Gonzalez, M. G., Sanchez-Vinas, M., Gonzalez-Casado, A., & Gomez-Saez, A. M. (2007). Principles of analytical calibration/quantification for the separation sciences. *Journal of Chromatography A*, 1158(1-2), 33-46.
- Dinckaya, E., Akyilmaz, E., Telefoncu, A., & Akgol, S. (1999). Eggplant tissue homogenate-based bioselective membrane electrode for determination of catechol.
- Dumoulin, F., Durmuş, M., Ahsen, V., & Nyokong, T. (2010). Synthetic pathways to water-soluble phthalocyanines and close analogs. *Coordination Chemistry Reviews*, 254(23-24), 2792-2847.
- Engelhart, A. E., Plavec, J., Persil, Ozgöl., & Hud, N. V. (2008). Metal ion interactions with G-quadruplex structures. In *Nucleic acid-metal ion interactions* (pp. 118-153). Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Frees, S., Menendez, C., Crum, M., & Bagga, P. S. (2014). QGRS-Conserve: a computational method for discovering evolutionarily conserved G-quadruplex motifs. *Human genomics*, 8(1), 8.
- Goode, J. A., Rushworth, J. V. H., & Millner, P. A. (2015). Biosensor regeneration: a review of common techniques and outcomes. *Langmuir*, 31(23), 6267-6276.

- Gökçe, S. (2013). *Metalli ve metallsiz ftalosiyanınların sentezi, karakterizasyonu ve kobalt (II) ftalosiyanınin siklohegzen oksidasyonu üzerine katalitik aktivitesinin incelenmesi* (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Ioannou, D., & Griffin, D. K. (2010). Nanotechnology and molecular cytogenetics: the future has not yet arrived. *Nano Reviews*, 1(1), 5117.
- Iqbal, Z., Chen, J., Chen, Z., & Huang, M. (2015). Phthalocyanine-biomolecule conjugated photosensitizers for targeted photodynamic therapy and imaging. *Current drug metabolism*, 16(9), 816-832.
- Johnson, F. B. (2020). Fundamentals of G-quadruplex biology. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*.
- Kan, Z. Y., Yao, Y., Wang, P., Li, X. H., Hao, Y. H., & Tan, Z. (2006). Molecular crowding induces telomere G-quadruplex formation under salt-deficient conditions and enhances its competition with duplex formation. *Angewandte Chemie International Edition*, 45(10), 1629-1632.
- Keen, I. M. (1964). The Platinum Metal Phthalocyanines. *Platinum Metals Review*, 8(4), 143-144.
- Kerwin, S. M. (2000). G-quadruplex DNA as a target for drug design. *Current pharmaceutical design*, 6(4), 441-471.
- LakshmiPriya, T., & Gopinath, S. C. (2019). An introduction to biosensors and biomolecules. In *Nanobiosensors for Biomolecular Targeting* (pp. 1-21). Elsevier.
- Li, X., Zheng, B. D., Peng, X. H., Li, S. Z., Ying, J. W., Zhao, Y., ... & Yoon, J. (2019). Phthalocyanines as medicinal photosensitizers: Developments in the last five years. *Coordination Chemistry Reviews*, 379, 147-160.
- Lodish, H., & Zipursky, S. L. (2001). Molecular cell biology. *Biochem Mol Biol Educ*, 29, 126-133.
- Lopes-Nunes, J., Carvalho, J., Figueiredo, J., Ramos, C. I., Lourenço, L. M., Tome, J. P., ... & Cruz, C. (2020). Phthalocyanines for G-quadruplex aptamers binding. *Bioorganic Chemistry*, 103920.

- Ma, F., Li, C. C., & Zhang, C. Y. (2018). Development of quantum dot-based biosensors: principles and applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(39), 6173-6190.
- Matea, C. T., Mocan, T., Tabaran, F., Pop, T., Mosteanu, O., Puia, C., ... & Mocan, L. (2017). Quantum dots in imaging, drug delivery and sensor applications. *International journal of nanomedicine*, 12, 5421.
- Mehrotra, P. (2016). Biosensors and their applications—A review. *Journal of oral biology and craniofacial research*, 6(2), 153-159.
- Mergny, J. L., Lacroix, L., Han, X., Leroy, J. L., & Helene, C. (1995). Intramolecular folding of pyrimidine oligodeoxynucleotides into an i-DNA motif. *Journal of the American Chemical Society*, 117(35), 8887-8898.
- Miannay, F. A., Gustavsson, T., Banyasz, A., & Markovitsi, D. (2010). Excited-state dynamics of dGMP measured by steady-state and femtosecond fluorescence spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry A*, 114(9), 3256-3263.
- Mohanty, J., Barooah, N., Dhamodharan, V., Harikrishna, S., Pradeepkumar, P. I., & Bhasikuttan, A. C. (2013). Thioflavin T as an efficient inducer and selective fluorescent sensor for the human telomeric G-quadruplex DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 135(1), 367-376.
- Neidle, S., Balasubramanian, S., Campbell, S. F., Clore, M., & Lilley, D. M. (Eds.). (2006). *Quadruplex nucleic acids* (Vol. 7). Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Nie, S., Gao, X., & Han, M. (2003). *U.S. Patent Application No. 10/185,226*.
- Nikhil, B., Pawan, J., Nello, F., & Pedro, E. (2016). Introduction to biosensors. *Essays in Biochemistry*, 60(1), 1-8.
- Ozdemir, P. S., & Ozguney, A. T. (2017). Chemical structures of phthalocyanine based dyestuffs and their usage in production of functional textiles.
- Qlark Jr, L. C. (1956). Monitor and control of blood and tissue oxygen tensions. *ASAIO Journal*, 2(1), 41-48.

- Riyaz, B., Sudhakar, K., & Mishra, V. (2019). Quantum Dot-Based Drug Delivery for Lung Cancer. In *Nanotechnology-Based Targeted Drug Delivery Systems for Lung Cancer* (pp. 311-326). Academic Press.
- Robertson, J. M., & Woodward, I. (1937). 37. An X-ray study of the phthalocyanines. Part III. Quantitative structure determination of nickel phthalocyanine. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 219-230.
- Savla, R., Taratula, O., Garbuzenko, O., & Minko, T. (2011). Tumor targeted quantum dot-mucin 1 aptamer-doxorubicin conjugate for imaging and treatment of cancer. *Journal of controlled release*, 153(1), 16-22.
- Sessler, J. L., Jayawickramarajah, J., Gouloumis, A., Pantos, G. D., Torres, T., & Guldi, D. M. (2006). Guanosine and fullerene derived de-aggregation of a new phthalocyanine-linked cytidine derivative. *Tetrahedron*, 62(9), 2123-2131.
- Shi-Ge, Xing, Xiong, QR, Zhong, Q., Zhang, Y., Su-Min, Bian, Yong, Jin ve Xiao-Gang, Chu (2013). Recent research advances of antibody-conjugated quantum dots. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 41(6), 949-954.
- Smargiasso, N., Gabelica, V., Damblon, C., Rosu, F., De Pauw, E., Teulade-Fichou, M. P., ... & Claessens, A. (2009). Putative DNA G-quadruplex formation within the promoters of *Plasmodium falciparum* var genes. *BMC genomics*, 10(1), 362.
- Smith, A. M., Gao, X., & Nie, S. (2004). Quantum Dot Nanocrystals for In Vivo Molecular and Cellular Imaging. *Photochemistry and photobiology*, 80(3), 377-385.
- Speranskaya, E. S., & Goryacheva, I. Y. (2013). Fluorescent quantum dots: Synthesis, modification, and application in immunoassays. *Nanotechnologies in Russia*, 8(11-12), 685-699.
- Sperling, R. A., & Parak, W. J. (2010). Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 368(1915), 1333-1383.

- Tateishi-Karimata, H., Banerjee, D., Ohyama, T., Matsumoto, S., Miyoshi, D., Nakano, S. I., & Sugimoto, N. (2020). Hydroxyl groups in cosolutes regulate the G-quadruplex topology of telomeric DNA. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 525(1), 177-183.
- Thomas, A. L. (1990). *Phthalocyanine research and applications*. CRC Press.
- Tülek, Z. (2017). Biyosensörler ve Nanoteknolojik Etkileşim. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 6(2), 71-80.
- Uchiyama, M., Momotake, A., Ikeue, T., & Yamamoto, Y. (2020). Stepwise binding of a cationic phthalocyanine derivative to an all parallel-stranded tetrameric G-quadruplex DNA. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 213, 111270.
- Velusamy, V., Arshak, K., Korostynska, O., Oliwa, K., & Adley, C. (2010). An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors. *Biotechnology advances*, 28(2), 232-254.
- Vorlickova, M., Kejnovska, I., Sagi, J., Renciuk, D., Bednarova, K., Motlova, J., & Kypr, J. (2012). Circular dichroism and guanine quadruplexes. *Methods*, 57(1), 64-75.
- Wang, Z., & Tang, M. (2020). The cytotoxicity of core-shell or non-shell structure quantum dots and reflection on environmental friendly: a review. *Environmental Research*, 110593.
- Wilner, O. I., Willner, B., & Willner, I. (2012). DNA nanotechnology. In *Nano-Biotechnology for Biomedical and Diagnostic Research* (pp. 97-114). Springer, Dordrecht.
- Xi, H., Juhas, M., & Zhang, Y. (2020). G-quadruplex based biosensor: A potential tool for SARS-CoV-2 detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 167, 112494.
- Xue, Y., Kan, Z. Y., Wang, Q., Yao, Y., Liu, J., Hao, Y. H., & Tan, Z. (2007). Human telomeric DNA forms parallel-stranded intramolecular G-quadruplex in K<sup>+</sup> solution under molecular crowding condition. *Journal of the American Chemical Society*, 129(36), 11185-11191.

- Yan, J. W., Ye, W. J., Chen, S. B., Wu, W. B., Hou, J. Q., Ou, T. M., ... & Huang, Z. S. (2012). Development of a universal colorimetric indicator for G-quadruplex structures by the fusion of thiazole orange and isaindigotone skeleton. *Analytical chemistry*, 84(15), 6288-6292.
- Zharkova, I. S., Markina, N. E., Markin, A. V., Drozd, D. D., Speranskaya, E. S., & Goryacheva, I. Y. (2016). Influence of electric field on the properties of the polymer stabilized luminescent quantum dots in aqueous solutions. *Journal of Luminescence*, 176, 65-70.
- Zheng, B. X., Long, W., Zhang, Y. H., Huang, X. H., Chen, C. C., Zhong, D. X., ... & Wong, W. L. (2020). Rational design of Red fluorescent and selective G-quadruplex DNA sensing probes: The study of interaction signaling and the molecular structural relationship achieving high specificity. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 128075.
- Zhou, J. L., Lu, Y. J., Ou, T. M., Zhou, J. M., Huang, Z. S., Zhu, X. F., ... & Li, Y. M. (2005). Synthesis and evaluation of quindoline derivatives as G-quadruplex inducing and stabilizing ligands and potential inhibitors of telomerase. *Journal of medicinal chemistry*, 48(23), 7315-7321.