

**POLİMER TEMELLİ KATALİTİK NANOMOTORLARIN
HAZIRLANMASI VE UYGULAMALARI**

**PREPARATION OF POLYMER-BASED CATALYTIC
NANOMOTORS AND THEIR APPLICATIONS**

HİLMİ KAAK KAYA

PROF. DR. FİLİZ KURALAY

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2022

ÖZET

POLİMER TEMELLİ KATALİTİK NANOMOTORLARIN HAZIRLANMASI VE UYGULAMALARI

Hilmi Kaan KAYA

Yüksek Lisans, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Filiz KURALAY

Mayıs 2022, 67 sayfa

Sentetik nanomotorlar ya da diğer bir deyişle nanomakineler enerjiyi harekete çevirme kabiliyetine sahip moleküler veya nano ölçekteki yapılardır. Hareket özelliğine sahip olan bu yapılar, istenilen özelliklerin sağlanabilmesi adına boyut olarak büyütülebilir ve bu nedenden ötürü nanomotor veya mikromotor adlandırmaları sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Nanoteknoloji alanındaki hızlı gelişmelerin sonucu olarak çok küçük ölçekli motor yapılarının sentezi (üretimi veya fabrikasyonu) ve uygulamaları oldukça ilgi çekici konulardan biri olmuştur. Biyomedikal alan, görüntüleme teknolojileri, nanotıp, nano ölçekli taşıma, çevre ve akışkan sistemler gibi farklı alanlarda nanomotorların kullanımı söz konusudur. Bu özel yapılar hareket mekanizmaları temel alınarak genel olarak Katalitik (Yakıtlı) ve Yakıtsız Nanomotorlar olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadırlar. Sentetik nanomotorlar arasında kimyasal bir yakıt varlığında hareket ettirilen yapılar oldukça yoğun çalışılmaktadır. Bu grup nanomotorlar yüksek hızlara sahip olup düşük derişimlerdeki yakıt varlığında hareket edebilirler.

Bu tez çalışması kapsamında iletken polimer temelli katalik nanomotorların sentezi ve uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen nanomotorların dış katmanları poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT)/poli(3,4-etilendioksitiyofen) karboksilik asit (PEDOT-

COOH) ve polipirol (PPy)/poli(pirol-3-karboksilik asit) (PPy-COOH) kopolimerlerinden oluşmaktadır. Membran-kalıp tekniğine göre elektrokimyasal yöntemlerle hazırlanan nanomotorlar sonrasında antikor (antiHER2) ile immobilize edilmiş ve bu antikor yüklü nanomotorların meme kanseri hücre hattını (MCF-7) tanıma kapasitesi araştırılmıştır. Sentezlenen polimerik nanomotorların karakterizasyon çalışmaları taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, bu nanoyapıların karbon bazlı elektrot yüzeyine modifikasyonu sağlanmış ve durgun halde meme kanseri hücre hattı ile etkileşimi elektrokimyasal yöntem (EIS) ile de incelenmiştir. Ortaya çıkarılan polimer temelli katalitik nanomotorların biyomedikal alanda mevcut yöntemlere alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nanomotor, Katalitik Nanomotor, Elektrokimyasal Depozisyon, Kanser, Meme Kanseri, Meme Kanseri Hücre Hattı

ABSTRACT

PREPARATION OF POLYMER-BASED CATALYTIC NANOMOTORS AND THEIR APPLICATIONS

Hilmi Kaan KAYA

Master of Science, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Filiz KURALAY

May 2022, 67 pages

Nanomotors are one of the classes of molecular or nano-scale structures that can convert energy into motion. The dimensions of these motors can be enlarged in order to provide the desired features, and for this reason, they can also be called micromotors. As a result of the rapidly developing innovations in the field of nanotechnology, the synthesis (fabrication) and applications of these very small-scale motor structures, which have a mechanism of motion, have been one of the most interesting subjects of recent times. Nanomotors are used in different fields such as biomedicine, nanomedicine, nanoscale transport, environment, and fluid systems. Motion mechanisms are one of the essential features that distinguish these structures from other nanomaterials, and these features create two nanomotor classes which are named as "Fuel-Driven (Catalytic) Nanomotors" and "Fuel-Free Nanomotors". Catalytic nanomotors have high speeds and can move in the presence of low concentrations of fuel.

Within the scope of this thesis, the synthesis and applications of polymer-based catalytic nanomotors were carried out. The outer layers of the synthesized nanomotors are poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT)/poly(3,4-ethylenedioxythiophene) carboxylic acid (PEDOT-COOH) and polypyrrole (PPy)/poly(pyrrole-3-carboxylic acid) (PPy-COOH) copolymers. Electrochemical methods were used in the template-assisted

technique in order to prepare the nanomotors. After the fabrication processes were done, the antibody (antiHER2) was immobilized onto the nanomotors, and the capacity of these antibody-loaded nanomotors to recognize breast cancer cell lines (MCF-7) was investigated. The characterization studies of the prepared nanomotors were carried out by scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX), and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). In addition to that, modification of these nanostructures on electrode surfaces was performed, and the interaction with breast cancer cell line was investigated without motion. It is believed that the synthesized polymer-based catalytic nanomotors can be an alternative to existing methods in the biomedical field.

Keywords: Nanomotor, Catalytic Nanomotor, Electrochemical Deposition, Cancer, Breast Cancer, Breast Cancer Cell Line

TEŞEKKÜR

Bu tezin oluşması, tüm çalışma serüvenim süresince benimle bilgilerini ve yardımlarını paylaşmaktan çekinmeyen birçok kişi sayesinde mümkün oldu. Bu serüvende bana eşlik eden herkese minnettar olduğumu ifade etmek isterim.

Fakat 2019 yılında beni çalışma grubuna kabul eden ve akademik çalışmalarımın en başından itibaren -önemini her geçen gün daha fazla anlayabildiğim- bana tüm bu çalışma fırsatlarını sunan Prof. Dr. Filiz Kuralay'a sonsuz desteklerinden ötürü teşekkür ederim. Kendimi çalışma grubumuzda salt bir ekip üyesi gibi değil fakat bir ailenin ferdi gibi hissetmemde ve yüksek lisans serüvenime bu güven ve rahatlık ile devam etmemde kendisinin kıymetli katkılarını her zaman hatırlayacağım.

Deneylerim süresince kullanmış olduğum hücre hatlarının temini süreçlerinde ve tetrazolyum (MTT) testlerinde yardımcı olan Sezin Eren'e hem yardımları hem de arkadaşlığı ve paylaştığı öğretileri için; Doç. Dr. Bora Garipcan'a tüm yardımları için; nanomotor fabrikasyon aşamalarında yardımcı olan Gözde Yurdabak Karaca'ya hem yardımları hem de arkadaşlığı ve paylaştığı öğretileri için; Prof. Dr. Ayşegül Uygun Öksüz'e tüm destekleri ve yardımları için teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince beraber çalışma fırsatı bulduğum Yaşar Bayramlı'ya tüm yardımları ve öğretileri için; Mustafa Ali Güngör'e tüm arkadaşlığı, desteği ve cesaretlendirmeleri için; Elif Öztürk'e tüm arkadaşlığı, tavsiyeleri ve neşesi için teşekkür ederim.

Bu heyecanlı serüvenimde yine yanımda olan; sevgili Tunca Karasu, Ahmet Burak Berk, Sena Pişkin ve Miraç Tüysüz'e tüm arkadaşlıkları ve yardımları için teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımı ve beni bursiyer öğrenci olarak destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na 116Z503 No'lu TÜBİTAK 1001 Projesi kapsamında teşekkürlerimi sunmak isterim.

Son olarak, bana olan inanç ve güvenleri için aileme şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER	vii
ÇİZELGELER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Nanomotorlar (Nanomakineler).....	6
2.1.1. Nanomotorlar Çalışmalarına Ait Tarihçe	7
2.1.2. Nanomotorların Hareket Mekanizmaları.....	9
2.1.3. Nanomotorların Sentezine Ait Yaklaşımlar.....	11
2.1.4. Nano/Mikromotor Uygulamaları	11
2.1.4.1. Hastalık Teşhisi ve Sensör Amaçlı Motor Uygulamaları.....	13
2.1.4.1.1. Kanser Tanısı Amaçlı Motor Uygulamaları.....	15
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	18
3.1. Sarf Malzemeler.....	18
3.2. Nanomotorların Hazırlık ve Karakterizasyon Aşamalarında Kullanılan Cihaz ve Aparatlar	18
3.3. Nanomotorların Sentezi	19
3.3.1. PEDOT/PEDOT-COOH Temelli Nanomotorların Hazırlanması	20
3.3.2. PPy/PPy-COOH Temelli Nanomotor gruplarının Hazırlanması.....	20
3.3.3. Sentezlenen Nanomotorların Membrandan Ayrılması	20
3.4. Nanomotorlara AntiHER2 İmmobilizasyonu	22

3.4.1. 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodimit/N-hidroksisüksinimit (EDC/NHS) ile Nanomotor Yüzeylerinin Aktivasyonu.....	22
3.4.2. AntiHER2 İmmobilizasyonu	22
3.5. Hücre Kültürü Çalışmaları.....	22
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	24
4.1. PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH Temelli Tübüler Katalitik Nanomotorların Sentezi	25
4.2. PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH Temelli Tübüler Katalitik Nanomotorların SEM ve EDX ile Karakterizasyon Çalışmaları	38
4.3. Kullanılan MCF-7 ve SH-SY5Y Hücrelerinin Kültüre Edilmesi.....	41
4.4. Nanomotora EDC/NHS Modifikasyonu ve AntiHER2 Antikörünün İmmobilizasyonu.....	42
4.5. Elektrokimyasal Karakterizasyon ve Etkileşim Çalışmaları	51
4.6. Tetrazolyum Testi (MTT) Kullanılarak Meme Kanseri Hücre Hattı İle Etkileşen Nanomotorların Sitotoksikite Çalışmaları.....	52
5. YORUM.....	55
6. Kaynaklar.....	57
Ekler.....	63
Videolar.....	63
Özgeçmiş	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Farklı özelliklere sahip nanomalzemelerin uygulama alanları.....	1
Şekil 2.1. Nano/mikromotora ait hareket mekanizmaları.....	10
Şekil 2.2. Motorların sentez aşamaları.....	11
Şekil 2.3. Nanomotor yapılara ait uygulama alanları.....	13
Şekil 2.4. Ultrason tahrikli ssDNA@grafen oksit (GO) ile fonksiyonelleştirilmiş altın nanoteller ile miRNA'ların hücre içi tespiti. (A) Sağlam kanser hücrelerinde miRNA-21'in spesifik tespiti için "KAPALI-AÇIK" floresan anahtarlama sisteminin şematik çizimleri. (B) GO ile değiştirilmiş nanotelin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü. (C-F) Modifiye edilmiş bir nanomotorun (kırmızı daire) tek bir MCF-7 hücresine (mavi ok) etkileşim sürecini gösteren 4 saniyelik aralıklarla hızlandırılmış gerçek zamanlı görüntüler: diğer bazı nanomotorlar zaten etkileşmişken bazıları zar üzerinde sıkışmış durumdadır (Ultrason alanı: 6 V ve 2,66 MHz, Ölçek çubuğu: 10 µm). (G-J) Farklı hücre dizilerinde miRNA-21'in spesifik tespiti. Ultrason alanı (6 V ve 2,66 MHz) altında ssDNA@GO ile modifiye edilmiş nanomotorlarla 10 dakikalık inkübasyondan sonra sırasıyla tek bir MCF-7 (G ve H) ve HeLa hücrelerinin (I ve J) optik ve floresans görüntüleri.....	16
Şekil 3.1. Nanomotorların polikarbonat membrandan ayrılma basamakları.....	21
Şekil 3.2. Nanomotora ait sentez ve uygulama aşamaları.....	23
Şekil 4.1. PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotora ait elektrokimyasal kaplama eğrileri (3:1 monomer oranı, LiClO ₄ ortamı).....	27
Şekil 4.2. PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotora ait elektrokimyasal kaplama eğrileri (3:1 monomer oranı, KNO ₃ ortamı).....	28
Şekil 4.3. PPy/PPy-COOH temelli nanomotora ait elektrokimyasal kaplama eğrileri (6:1 monomer oranı, LiClO ₄ ortamı).....	28
Şekil 4.4. PPy/PPy-COOH temelli nanomotora ait elektrokimyasal kaplama eğrileri (6:1 monomer oranı, KNO ₃ ortamı).....	29

Şekil 4.5. PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorlara ait optik mikroskop görüntüsü (3:1 monomer oranı, dopant: LiClO_4).....	31
Şekil 4.6. PPy/PPy-COOH temelli nanomotorlara ait optik mikroskop görüntüsü (3:1 monomer oranı, dopant: LiClO_4).....	32
Şekil 4.7. a) PEDOT/PEDOT-COOH, b) PPy/PPy-COOH temelli nanomotorlar: İyi yıkama yapılmayan ortamda yakıt eklendikten sonraki davranış (3:1 monomer oranı, dopant: LiClO_4).....	33
Şekil 4.8. PEDOT/PEDOT-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorlara ait birlikte ve kontrollü hareket.....	34
Şekil 4.9. PEDOT/PEDOT-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorlara ait kabarcık itme mekanizmasının optik mikroskop altında görüntülenmesi.....	35
Şekil 4.10. PEDOT/PEDOT-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorların hareketlerinin belirli sürelerde takibi (Ölçüm skalası 200 μm olarak verilmiştir.).....	36
Şekil 4.11. PEDOT/PEDOT-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorlara ait hareketin belirli sürelerde takibi (Manyetik alanın yönü değiştirilmektedir.).....	37
Şekil 4.12. PPy/PPy-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorlara ait hareketin belirli sürelerde takibi (Manyetik alanın yönü değiştirilmektedir.).....	38
Şekil 4.13 PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik tübüler yapıya ait SEM görüntüsü.....	39
Şekil 4.14. PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik tübüler yapının EDX analizi.....	39
Şekil 4.15. PPy/PPy-COOH temelli katalitik tübüler yapıya ait SEM görüntüsü.....	40
Şekil 4.16. PPy/PPy-COOH temelli katalitik tübüler yapının EDX analizi.....	40
Şekil 4.17. Lamel 1'deki MCF-7 hücrelerinin mikroskop görüntüsü.....	42
Şekil 4.18. Lamel 2'deki MCF-7 hücrelerinin mikroskop görüntüsü.....	42
Şekil 4.19. EDS/NHS ile aktive edilmiş antiHER2 yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorların MCF-7 hücre hattı ile etkileşimi.....	47
Şekil 4.20. AntiHER2 yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorun MCF-7 hücre hattı ile etkileşimi.....	47

Şekil 4.21. EDS/NHS ile aktive edilmiş antiHER2 yüklü PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorların MCF-7 hücre hattı ile etkileşimi.....	48
Şekil 4.22. Anti insan albumin antikoru yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlar ve MCF-7 hücreleri.....	49
Şekil 4.23. MCF-7 hücreleri ile aynı ortamda bulunan ve hücrelerin arasından geçen anti insan albumin antikoru yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotora ait optik mikroskop görüntüsü.....	49
Şekil 4.24. Anti insan albumin antikoru yüklü PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotor ve MCF-7 hücreleri.....	50
Şekil 4.25. SH-SY5Y hücreleri ile aynı ortamda bulunan antiHER2 yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotora ait optik mikroskop görüntüsü....	51
Şekil 4.26. Nanomotor modifiye elektrotlar ile gerçekleştirilen EIS temelli karakterizasyon ve MCF-7 meme kanseri hücre hattı etkileşim çalışmaları (n=3).....	52
Şekil 4.27. Polimerik nanomotorların MTT analizi.....	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 4.1. PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlara ait veriler (EDC/NHS inkübasyonu) (n=5).....	44
Tablo 4.2. PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorlara ait veriler (EDC/NHS inkübasyonu) (n=5).....	44
Tablo 4.3. PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlara ait veriler (AntiHER2 immobilizasyonu) (n=5).....	45
Tablo 4.4. PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorlara ait veriler (AntiHER2 immobilizasyonu) (n=5).....	45
Tablo 4.5. MTT analizi yapılan nanomotorlara ait derişimler.....	53

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

pN	pikonewton
Pt	Platin
Ni	Nikel
Au	Altın
Zn	Çinko
H ₂	Hidrojen
Fe	Demir
Ti	Titanyum
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H ₂ O	Su
O ₂	Oksijen
nm	Nanometre
µm	Mikrometre
ng	Nanogram
ml	Mililitre

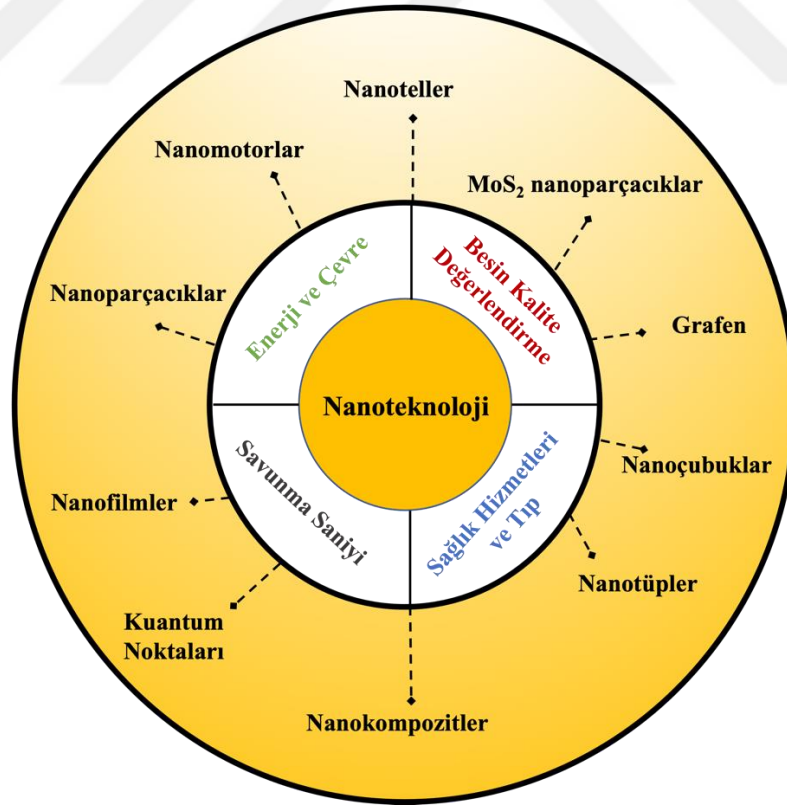
Kısaltmalar

Ar-Ge	Araştırma ve Geliştirme
AFM	Atomik Kuvvet Spektroskopisi

XPS	X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi
EDX	Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
CV	Dönüşümlü Voltametri
EIS	Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
XRD	X-Işını Kırınımı
PCT	Prokalsitonin
FITC	Fluoresein İzotiyosiyanat
NHS	N-hidroksisüksinimit
EDC	1-(3-dimetilaminopropil)-N'etilkarbodiimit hidroklorür
PEDOT	Poli(3,4-etilendioksitiyofen)
PPy	Polipirol
EDOT	3,4-Etilendioksitiyofen
Py	Pirol
ssDNA	Tek Sarmallı Deoksiribonükleik Asit
miRNA	Mikroribonükleik Asit
AuNW	Altın Nanotel
PC	Polikarbonat
RF	Radyo Frekansı
FBS	Fetal Sığır Serum
MTT	Tetrazolyum Testi

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, nanometre ölçü birimi seviyesinde en az bir boyuta sahip yenilikçi malzemelerin tasarlanmasını ve kullanımını inceleyen temel bilim, mühendislik ve teknoloji uygulamaları için kullanılan bir terimdir. Nanometre ölçü mertebesindeki malzemelerin özellikleri, aynı malzemelerin makro boyutlu yapılarında taşıdığı özelliklerden önemli ölçüde farklılıklar gösterebilmektedir. Bu farklılıkların getirdiği avantajlar ise günümüz; kimya, fizik, malzeme bilimi, biyomedikal alan ya da çeşitli mühendislik uygulamalarında nanoteknolojinin işe yarar ve akıllı kullanımı ile öne çıkmakta ve her geçen gün gelişim göstermektedir. Günümüzde pozitif bilimden elde edilen kazanımlar ve disiplinlerarası yürütülen çalışmalar, nano ölçekte malzemelerin tasarlanması ve uygulamaları süreçlerinde rol oynayan temel unsurlar arasında yer almaktadır [1-3]. Farklı morfoloji ve özelliklere sahip olarak tasarlanmış nanomalzemeler önem arz eden disiplinlerin ortak noktalarından biri olmuştur (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Farklı özelliklere sahip nanomalzemelerin uygulama alanları [4].

Nanomalzeme bilimi ve teknolojisi; -biyolojik alanlar da dahil olmak üzere- yüksek performanslı malzeme sınıfları oluşturmak, yeni nano cihaz konseptleri geliştirmek, hedeflenen özelliklere yönelik izole nanoyapılar sentezlemek ve bu yapıların bileşenlerini bir araya getirmek amacıyla çalışmalar yürütmektedir. Nanobilimin; kimya, elektronik ve biyoloji ile olan bu bağı sentezlenen yeni nanoyapıların karakterizasyonları için daha gelişmiş araçların keşfine olanak sunmakta ve nanomalzemelerin bilim ve teknolojisinin ilerlemesine ilham vermektedir [5]. Karbon nanotüpler, grafen, grafen benzeri iki boyutlu (2D) malzemeler, kuantum noktalar, nanokompozit yapılar ya da nanotel/nanoçubuk şeklindeki yapıların sentez teknolojisi, gelişen karakterizasyon yöntemlerinin de etkisi ile günümüzde hız kazanmış ve yaygın bir biçimde araştırma & geliştirme (AR-GE) ve üretim süreçlerinde yer almaya başlamıştır. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM), atomik kuvvet mikroskopisi (AFM), çeşitli X-ışınları analiz yöntemleri (enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi, EDX; X-ışını fotoelektron spektroskopisi, XPS gibi) ya da elektrokimyasal teknikler (dönüşümlü voltametri, CV; elektrokimyasal empedans spektroskopisi, EIS gibi) nanoyapıdaki malzemelerin geliştirilmesi ve uygulaması alanlarında etkin olan karakterizasyon tekniklerinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Nanomotorlar ise söz konusu olan nano ölçekteki bu gelişim süreçlerinin, yenilikçi ve keşfedilmeye açık bir araştırma sahasını oluşturmaktadır. Bu sebeple özellikle son iki on yılda nanomotorların topladığı ilgi, nanoteknoloji ve üretim endüstrisinin de getirdiği yeniliklerle bilimsel araştırma ve uygulama süreçlerine nanomotorların artarak dahil olmasını sağlamıştır.

Nano/mikromotorlar, enerjiyi otonom harekete dönüştürme yetisine sahip ve genellikle pikonewton (pN) mertebesinde bir güç üretme yetisinde olan laboratuvar yapımı (insan yapımı) nano/mikro ölçekli yapılar için verilen isimdir [2, 6, 7]. Bu çok küçük ölçekli aygıtlar otonom, kendi başına hareket etme özelliğine sahiptirler. Nano ölçekli makinelerin kullanımının sağladığı fayda; ilaç taşınımı, nano/mikro boyutlu yük veya kargo taşınımı, sensör teknolojisi, invazif olmayan biyomedikal amaçlı cerrahi uygulamalar gibi birçok farklı alanda önem taşımaktadır [6, 8-12]. Nano/mikro ölçekteki motorların özellikle yüzey fonksiyonelleştirilmesi gibi modifikasyon süreçlerine tabi tutulması, bu motorların belirli yapılarla seçici şekilde etkileşime

girmesine olanak sağlayarak uygulama alanlarını etkin bir biçimde geliştirmekte ve genişletmektedir [13]. Kendiliğinden hareket mekanizmalarına sahip olan nanomotorlar, uygun yüzey modifikasyonları ile de birleştirildiğinde birçok nano boyuttaki yapıdan farklılık kazanabilmekte ve hareket mekanizmalarının sağladığı hızlı etkileşim, izolasyon, manevra kabiliyeti gibi avantajlarla; medikal, enerji ya da çevre uygulamaları, besin kalite kontrol gibi farklı alanlarda üstünlük sağlama potansiyeline sahip olmaktadır. Hareket mekanizmalarına bağlı olarak nano/mikromotorlar; yakıt kullanımı ile kendiliğinden hareket eden (katalitik) ve elektromanyetik dalga, manyetik kuvvet, akustik alan, ışık etkisi ya da ultrasonik ses dalgaları gibi dış enerji kaynaklarının kullanımı ile hareket özelliği kazanan yakıtsız nano/mikromotorlar olarak sınıflandırılabilir [14-16]. Nanomotorların kullanılmakta olduğu alanlardan özellikle biyomedikal teknolojilere hitap eden nanotıp, kimyasal sensör, fonksiyonel yüzey tasarımı, hücre tanıma, hücre içi kargo ve yük taşınımı gibi uygulamalar insan ve başka canlı yaşamının idamesi ve yaşam kalitesinin artırılması adına oldukça dikkat çeken çalışmalar arasındadır [17].

Bu bağlamda, tez çalışmaları kapsamında çağımızın ölüm oranı en yüksek hastalığı olan ve kesin tedavisi halen çoğu türünde bulunamamış olan kanserin teşhisine yönelik, tümör hücrelerini tanıyan katalitik nanomotor sistemlerinin geliştirilmesi üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle, biyomedikal alanda kullanım potansiyeline sahip olabilecek dış yüzeyi fonksiyonel grup içeren polimerik nanomotorların hazırlanması ve meme kanser hücrelerini (MCF-7 hücre hattından elde edilen) teşhis etmede kullanılmasına yönelik araştırmalar yapılmıştır. Akciğer kanserinden sonra dünyada görülme sıklığı en yüksek olan kanser türü meme kanseridir. Ayrıca, meme kanseri kadınlarda kanser tipleri içerisinde en fazla görülen ve en fazla ölüme neden olan kanserdir [18]. Elektrokimyasal yöntemlerle membran-kalıp tekniğine göre sentezlenen polimerik nanomotorların dış katmanları poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT)/poli(3,4-etilendioksitiyofen) karboksilik asit (PEDOT-COOH) ve polipirol (PPy)/poli(pirol-3-karboksilik asit) (PPy-3-COOH) kopolimerlerinden oluşmaktadır. İç katmanları ise sırasıyla platin (Pt), Pt-nikel (Ni) ve Pt segmentlerinden oluşmaktadır. Sentezlenen nanomotorların yüzey morfolojilerinin, yapısal kompozisyonlarının ve elektrokimyasal özelliklerinin anlaşılabilmesi adına karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi

(EIS)'den faydalanılmıştır. Hazırlanan nanomotorların hareketi hidrojen peroksit (H_2O_2) yakıtı varlığında gerçekleştirilmiştir. Meme kanser hücrelerini (MCF-7 hücre hattı) diğer hücrelerden özgün olarak ayıran ve böylelikle kanserli hücre teşhisini sağlayan nanomotorların bu özelliği dış yüzeylerine MCF-7 hücre hattını tanımaya yönelik olarak antiHER2 antikoru immobilize edilerek kazandırılmıştır. Ek olarak, EIS yöntemi ile nanomotor modifiye kalem grafit elektrotlar (PGE'ler) ile oluşturulan yüzeylerin meme kanseri hücre hattı ile etkileşimi incelenmiştir. Sentezlenen nanomotorların iletken polimer temelli olması ekstra modifikasyon basamaklarını ortadan kaldırmış ve yüksek hızda hareket gibi avantajlar sağlamıştır. Tez çalışmaları ile elde edilen bulgular dahilinde öne çıkan hususlar şu şekilde özetlenebilir:

- Meme kanseri tanısı için fonksiyonel polimer temelli nanomotorlar tasarlanmıştır.
- Düşük derişimlerdeki yakıt varlığında düzgün ve kontrollü hareket eden yapılar sentezlenmiştir.
- Fonksiyonel nanomotorlar antiHER2 immobilizasyonu için etkin platformlar olmuşlardır.
- Klasik kanser tanı yöntemlerine alternatif olabilecek pratik bir nanoteknoloji geliştirilmiştir.

Nanomotor temelli çalışmalar oldukça ilgi çekici ve etki değeri yüksek araştırmalar olup tez kapsamında ortaya çıkarılan bulguların yaygın etkisinin iyi düzeyde olacağı değerlendirilmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Nanoteknolojinin, nanometre ölçü birimi seviyesinde en az bir boyuta sahip yenilikçi malzemelerin tasarlanması süreçlerini inceleyen ve geliştiren yeni bir çalışma sahası olmasının temelleri ilk kez 1959 yılında Fizikçi Richard Feynman'ın Kaliforniya Teknoloji Enstitüsü'nde yaptığı “*Aşağıda Daha Çok Yer Var*” başlıklı konuşması sonrasında atılmıştır. Bu konuşmadan kısa bir süre sonra üretilen küçük ölçekli elektrik motorunun keşfi ise cihazların minyatürizasyonunun nanoteknoloji gibi yeni çalışma sahalarının önünü açacağını işaret etmiştir [6]. Sentezlenen malzemelerin/cihazların boyutları küçüldükçe davranışlarında meydana gelen farklılıklar bu yeni teknolojinin önemli ilgi alanlarından birkaçını oluşturmakta ve üzerine yapılan çalışmaları güncel tutmaktadır [19-21].

Nanomotorlar ise gelişen bu yenilikçi teknoloji ile sentezlenen, insan vücudu ya da doğada bulunan doğal makineleri taklit etme düşüncesi ile keşfedilmiş nano boyutlu malzemeler arasında yer almaktadır [22, 23]. Bu yapıların uygulama alanına göre etkinliğini artırmak üzere boyutları ayarlanabilmektedir ve bu nedenle mikromotorlar başlığı altında da aynı amaçla kullanılan yapılar incelenebilmektedir. Amaca uygun gerçekleştirilen modifikasyon, fonksiyonelleştirme ve segment (katman ya da tabaka) ekleme işlemleri motorların performansını iyileştirmektedir. Nano/mikromotorları diğer nanomalzemelerden ayıran en belirgin özellik veya farklılıkları ise şüphesiz ki hareket mekanizmalarıdır. Hareket özellikleri ile nanomotorlar yüklerini/kargolarını bir lokasyondan başka lokasyonlara iletebilmekte, istenilen fonksiyonelleştirme ile de belirli yapılarla spesifik olarak etkileşime girebilmektedirler. Spesifik etkileşim, etkin ve kontrollü hareket mekanizması ile daha kısa sürelerde gerçekleştirilebilmektedir. Nano/mikromotorlar hareket mekanizmalarının içerdiği farklılıklar ile genel olarak katalitik (yakıtlı) ve yakıtsız olarak sınıflandırılabilir.

Katalitik nano/mikromotorlar hareket özelliklerini yapılarında bulunan katalitik kısım - örneğin platin, rutenyum gibi metalik katmanlar- ve ortamdaki halihazırda mevcut olan veya sonradan ortama eklenen hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi yakıtlar varlığında meydana gelen ara yüzey kimyasal reaksiyonlar ile kazanmaktadır. Gerçekleşen kimyasal reaksiyonun türüne göre katalitik nano/mikromotorlar hareketlerini baloncuk oluşturarak -bir diğer deyiş ile- kabarcık geri tepme mekanizması aracılığıyla ya da ortamda bulunan hidrojen peroksit gibi yakıtların foto-katalitik bozunumu sonrası oluşan kendiliğinden itme mekanizmaları aracılığı ile kazanmaktadırlar [24, 25]. Nanomotorlar gibi küçük makinelerin; biyomedikal, kimyasal (biyo)sensörler, sulardan toksik maddelerin arındırılması, nano ölçekli hücre içi taşıma ve montaj işlemleri, mikro akışkan sistemlerde kargo hareketi gibi farklı uygulama alanlarında güncel kullanımları gelişen disiplinlerarası çalışmalar ile artarak devam etmektedir [17, 26, 27].

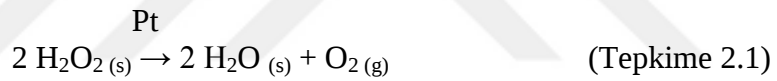
2.1. Nanomotorlar (Nanomakineler)

Bir terim olarak, nanomotor, enerjiyi otonom harekete dönüştürme kabiliyetine sahip yapay nanomakine için verilen isimlendirmedir. Bu yapıların çoğunlukla üretebildiği güç pikonewton (pN) seviyesinde gözlemlenmektedir [7, 17, 28]. Bu sentetik makinelerin tasarımı çevremizde gördüğümüz veya sahip olduğumuz biyolojik motor mekanizmalarından esinlenerek ortaya çıkarılmıştır. Nano/mikromotor yapıların barındırdıkları özellikler, örneğin farklı hareket mekanizmaları, bu yapılara bilim dünyasında çeşitli yenilikçi kullanım alanları sunan avantajlar kazandırmaktadır. Yapısındaki katalitik malzeme ve ortamda bulunan ya da harici olarak eklenen yakıt ile gerçekleşen ara yüzey kimyasal reaksiyonları sayesinde hareket özellikleri kazanan nano/mikromotorlar katalitik nano/mikromotorlar olarak adlandırılırken işbu hareket özellikleri ortamda herhangi spesifik bir kimyasal yakıt bulunmadan da, örneğin manyetik kuvvetler ya da ultrasonik ses dalgaları gibi, gerçekleşebilmektedir. Hazırlanma sürecinde sentezlenen ya da hazır hale getirilen nanomotorların boyutları, bu işlevsel nanomakinelerin kullanım sahasına bağlı olarak farklı yüzey modifikasyonları ya da katmanlar içermektedir ve bu sebepten ötürü ortaya çıkan malzemelerin boyutları yer yer mikrometre seviyesine de ulaşmaktadır. Bu sebepten ötürü bilimsel literatürde aynı maksat ile kullanılan küçük ölçekli hareket

mekanizmasına sahip yapılar mikromotor ve nanomotor olarak isimlendirilmektedir [28-31].

2.1.1. Nanomotorlar Çalışmalarına Ait Tarihçe

Nano ölçekli taşıyıcıların keşfi nanobilimde oldukça önemli bir yere sahip olmuştur. Nano/mikromakinelerin bilimsel literatürde ilk kullanımı 2004 yılında Ayusman Sen ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir [28]. Oluşturulan bu nano/mikromotor otonom hareket kabiliyetine sahip, bimetallik nanotel çubuk şeklinde tasarlanmış, Pt ve altın (Au) segmentlerden oluşturulmuştur. 370 nm çapında ve 1 µm uzunluğunda olan bu yapı, hareket özelliğini Pt segmenti sayesinde kimyasal yakıtının (%2-3 derişimindeki H₂O₂) bozunarak su (H₂O) ve oksijen gazına (O₂) dönüşümü reaksiyonu ile kazanmıştır. Tepkime 2.1, bu motorda kimyasal yakıt varlığında gerçekleşen kimyasal reaksiyonu göstermektedir. Bu yapılar açığa çıkan O₂ sayesinde kabarcık itme mekanizmasına dayalı olarak hareket etmektedirler.



Tarihsellik değeri açısından bir diğer önemli nano/mikromotor çalışması ise 2004 yılında Crespi ve arkadaşları tarafından Pennsylvania Devlet Üniversitesinde raporlanmıştır [29]. Çalışma, sulu ortama hidrojen peroksit yakıtının eklenmesiyle otonom hareket kazanan Pt-Au çubuklar (teller) şeklindeki nanomotorları kapsamaktadır. Raporlanan sonuçlar, ilgi çekici bir şekilde hazırlanan nanomotorun uzunluk ve hız bakımından çok kamçılı bakteri (4 µm uzunluk ve 8 µm/s hız) ile korelasyon halinde olduğunu göstermiştir [30]. 2008 yılında Joseph Wang'ın ortaya çıkardığı Au/Pt kompozisyonundan oluşan bimetallik tabakaya karbon nanotüp ekleme fikri (Au/Pt-CNT motorlar), nanotel şeklindeki yapıların hızlarını yüksek oranda artırmış ve günümüz nano/mikromotor hazırlama süreçlerine dair oldukça yapıcı katkılarda bulunmuştur [31]. Kullanılan karbon nanotüp derişiminin 0,50 mg/mL olduğu çalışmada, ortaya çıkarılan asimetric metal nanotel motorların hızları hidrojen peroksit yakıtı varlığında ortalama 50-60 µm/s'leri bulmuştur. Bu esnada yakıtı ait derişimler değıştirilmiş ve farklı miktarlar çalışılmıştır. Hidrojen peroksit derişimin

%15 (a/a)'i bulduğu ortama hidrazin gibi başka bir kimyasal yakıtın da etkisi ile birlikte motor hızlarının 94 $\mu\text{m/s}$ 'ye ulaştığı tespit edilmiştir. Bu esnada ise %2,5'lik hidrojen peroksit ve %0,15'lik hidrazin kullanılmıştır. Bazı motorların ise hızlarının 200 $\mu\text{m/s}$ civarında olduğu görülmüştür. Yaklaşık 2 yıl sonra ise Oliver G. Schmidt ve ekibi tarafından Pt, demir (Fe) ve titanyum (Ti) segmentlerden oluşan mikrotübüler motorlar geliştirilmiştir [32]. Literatürdeki ilk *in vivo* çalışma ise mide öz suyunda bulunan gastrik asidi yakıt olarak kullanan poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT) ve çinko (Zn) segment içeren ve 2015 yılında Joseph Wang ve Lianfang Zhang tarafından literatüre kazandırılmış olan mikromotorlardır (PEDOT/Zn motorlar) [33]. Bu çalışmaya ait deneysel süreç canlı olarak farelerde gerçekleştirilmiştir. Fareye enjekte edilmiş motor yapılar kontrollü olarak mideye yönlendirilmiştir ve kontrollü ilaç salımında kullanılmıştır. Gastrik asit varlığında Zn segment, Zn(II)'ye yükseltgenmiş ve aynı zamanda hareketi sağlayan hidrojen gazı (H_2) ortaya çıkmıştır. Yapılara ait boyutlar ise 20 μm boy ve 5 μm çap olarak belirtilmiştir. Yakın bir zamanda ise Samuel Sánchez ve çalışma arkadaşları tarafından bakteri enfeksiyonlarında kullanılmak üzere antimikrobiyal nano ve mikromotorlar geliştirilmiş ve *in vivo* uygulamaları yapılmıştır [34]. Biyouyumlu bir hareket kaynağı olan üreaz enzimi varlığında hareket eden bu motorlar katyonik antimikrobiyal peptidlerin silika mikro ve nanopartiküller üzerine immobilizasyonu ile elde edilmişlerdir. Canlı olarak fare modelinin kullanıldığı deneylerde mikromolar (μM) mertebesinde gram (+) ve gram (-) bakteri türlerine karşı bakterisidal aktivite gözlenmiştir. Motor hızlarının 200 mmol/L üre varlığında $3,1 \pm 0,3$ $\mu\text{m/s}$ ve $4,3 \pm 0,5$ $\mu\text{m/s}$ arasında değiştiği bildirilmiştir.

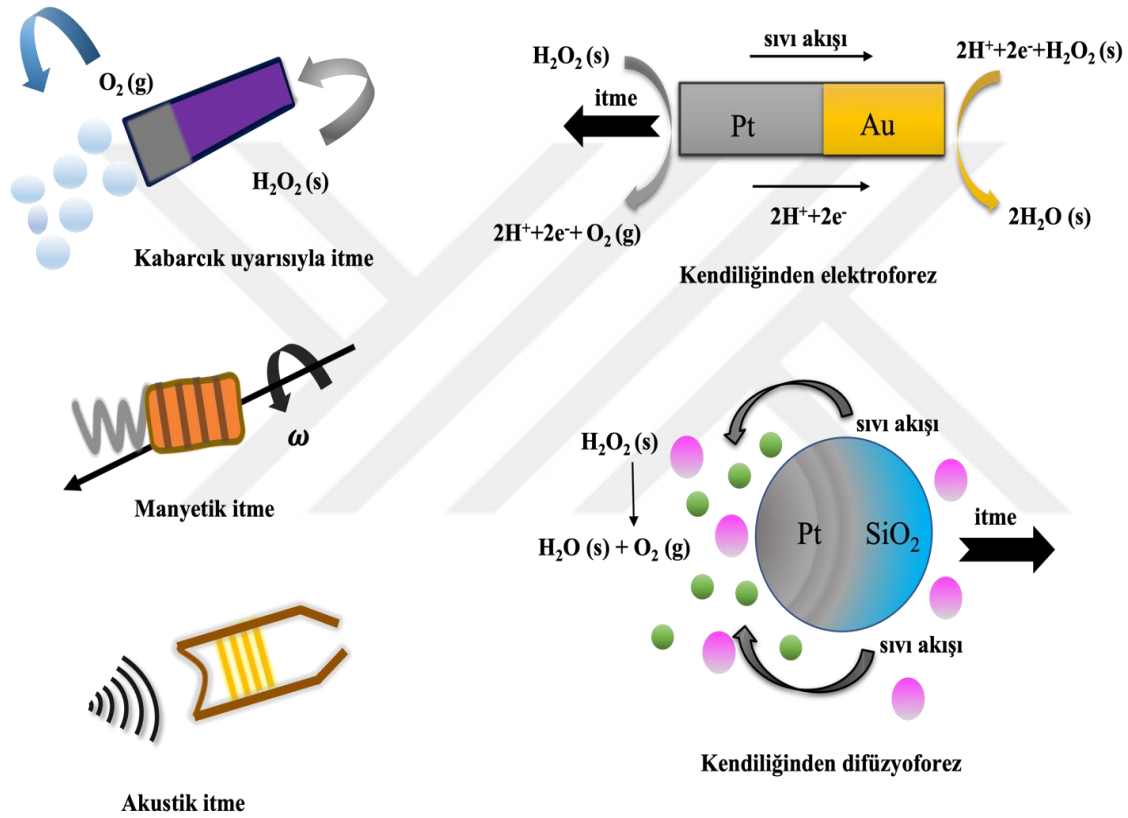
Günümüzde gelişen sentez ve karakterizasyon yöntemleri ile tasarlanabilen motor yapılar geniş bir ilgi uyandırmaktadır. Bu mikro/nanomotor sistemlerinin; dekore edilme, kapsülleme veya işlevselleştirme yoluyla birden fazla tamamlayıcı bileşeni tek bir işlevsel sisteme entegre etmek için uygun platformlar oluşturmada kullanıldığı bilinmektedir. Devamında ise geniş bir uygulama yelpazesi altında araştırmalar sunulmaktadır [35]. Bu sentetik akıllı nano/mikro ölçekteki makineler, akıllı algılamadan çevresel iyileştirmeye, hedefe yönelik kontrollü ilaç salımına, tanıma ve teşhis amaçlı kullanıma, cerrahi operasyonlara ve diğer birçok gelecek vaat eden uygulamalara diğer klasik sistemlere göre avantajları sayesinde hızla adapte olmuş ve yeni teknolojilerin geliştirilmesine yol açmıştır [36, 37].

2.1.2. Nanomotorların Hareket Mekanizmaları

Hali hazırda geliştirilmiş nano/mikromotorların hareket mekanizmalarını tarif eden bilimsel literatürde birçok rapor mevcuttur [10, 38-41]. Bu hareket mekanizmaları arasında nanomotorların hareket yönlerinin kontrolü üzerine etki eden en önemli mekanizmalardan birisi olarak katalitik hareket karşımıza çıkmaktadır. Bu motor grubu genel olarak yapılarında bulunan katalitik tabakaların sayesinde ortama eklenen veya doğal ortamda bulunan bir yakıtın bozunması aşamasında açığa çıkan türlerin sağladığı kabarcık etkisi ile hareket ederler. Bu esnada ilk aşamada yakıtın katalitik tabakaya difüzyonu önemlidir. Diğer bir yaklaşım ise kimyasal gradyan farkına bağlı olarak kendiliğinden elektroforez oluşumudur. Bu yaklaşımlara bağlı olarak geliştirilen tübüler, çubuk ve Janus yapısındaki motorlara ait çeşitli çalışmalar kapsayıcı bir şekilde sunulmuştur [42-44]. Sentezlenen ilk nanomotor sınıflarından olan katalitik hareket mekanizmasına sahip yapılar, platin gibi katalitik özellikler gösterebilen tabakaların kimyasal bir yakıt varlığında, hidrojen peroksit ya da hidrazin gibi, dekompozisyonu (bozunması) sonucu hareket edebilmektedir [31, 38, 45, 46]. Canlıların biyolojik ortamlarında da mevcut olan düşük derişimli hidrojen peroksitin fizyolojik süreçlerde önemli etkilerinin olduğu fakat yüksek derişimlere erişildiğinde bu etkinin toksik özellikler gösterebildiği bilinmektedir [47]. Bu nedenle, özellikle biyomedikal ekipman teknolojilerinin geliştirilmesi gibi öncelikli alanlara hitap edebilecek sentetik katalitik makinaların biyouyumluluk ve düşük yakıt gereksinimi gibi nitelikleri oldukça ön plana çıkmaktadır. Kolay sentez aşamaları, efektif ve hızlı oluşları sebebiyle tercih edilen bu hareket mekanizmasına sahip motorlarda bu sebeple düşük yakıt varlığında hareketin sağlanması en önemli araştırma alanlarından biri olmuştur. Ayrıca, güncel nanomotor çalışmaları arasında mide sıvısı gibi doğal, su gibi toksik olmayan ortamlarda hareket edebilen motor yapıların ortaya konulması önem arz etmektedir [33, 48]. Ek olarak, enzim gibi biyomoleküller sayesinde hareket özelliği kazandırılmış motorlar da dikkat çekmektedir [49, 50].

Katalitik motorların yakıt gereksinimine alternatif olarak geliştirilen yakıtsız motorlarda ise hareket özelliği harici bir etki varlığında kazandırılmıştır. Bu harici kuvvetler; manyetik, elektrik ve akustik alan, ultrasonik dalga ya da ışık ile kontrollü uyarma şeklinde sınıflandırılmaktadır. Yardım alınan harici kuvvetin türüne göre nanomotorların fiziksel biçimi; tel parçacık, spiral ya da Janus partikül şeklinde tasarlanabilmektedir [13, 15, 51-54]. Hareket özellikleri, hız ve hareket yönü kontrolü açısından her iki sınıf

nanomotorlar da çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Örneğin, manyetik bir segmente sahip ve düşük yakıt varlığında hareket eden nanomotorlar manyetik segmenti sayesinde kontrollü hareketin sağlanması ile birlikte spesifik hücre tanıma, kontrollü ilaç taşınım ve salım gibi uygulamalarda rahatlıkla kullanılabilir. Manyetik segment sayesinde kontrol dış bir mıknatıs (magnet) ile gerçekleştirilir [46]. Şekil 2.1’de literatürden faydalanılarak hazırlanmış ve hareket mekanizmalarına göre sınıflandırılmış şematik gösterim verilmektedir [55].

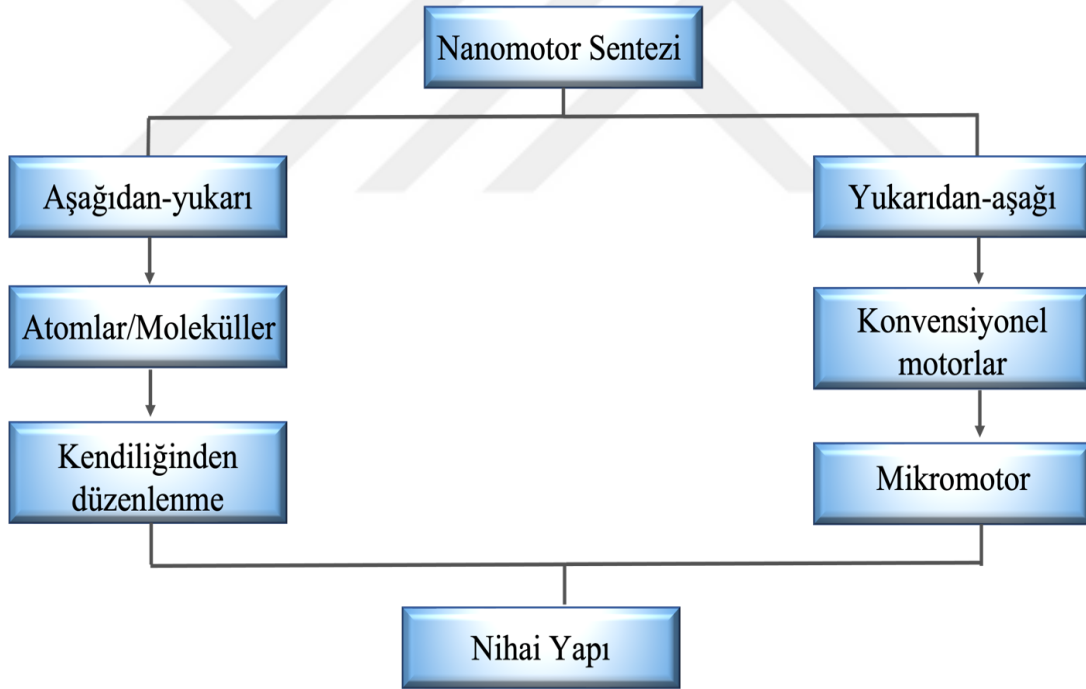


Şekil 2.1. Nano/mikromotorlara ait hareket mekanizmaları [55].

Hareket mekanizması aynı zamanda nanomotorların sınıflandırması için temel unsur olduğundan, nanomotorlar ana olarak iki grupta sınıflandırılabilir: Katalitik (Yakıtlı) ve Yakıtsız Nanomotorlar. Bu sınıflandırma haricinde yapılan ve kabul gören başka bir sınıflandırma ise fonksiyonelleştirme mekanizmalarına dayalıdır. Bu sınıflandırmada ise Biyo Nanomotorlar, Hibrit Motorlar, Mekanik Motorlar, Atomik Nanomotorlar, Optik Nanomotorlar gibi alt gruplar oluşturulmuştur. Ayrıca, şekilsel veya kompozisyona bağlı ayırım da yapılabilir [17, 41, 56].

2.1.3. Nanomotorların Sentezine Ait Yaklaşımlar

Nanomalzeme sentezinde yaygın olarak kullanılan sentez aşamaları nano ve mikromotor sentezinde de söz konusudur. Bu yaklaşımlar aşağıdan-yukarı ve yukarıdan-aşağı olmak üzere iki türdür [3, 57]. Bu yaklaşımlardan ilki olan aşağıdan-yukarı yaklaşım; tasarlanan motorların atomik ve moleküler seviyede oluşturulmasını sağlarken yukarıdan-aşağı yaklaşım ise; mikro ve makro boyutlarda yapıların tasarlanmasına olanak sunar [58, 59]. Literatürde, nano/mikromotorların sentez sonrası aldıkları formların genel itibarı ile; tübüler, Janus parçacık, tel veya çubuk, helikal, spiral ve kendiliğinden düzenlenmiş polimerik nano/mikromotor yapılar şeklinde olduğu gözlemlenebilmektedir [41]. Şekil 2.2’de sentez aşamalarında kullanılan aşağıdan-yukarı ve yukarıdan-aşağı yaklaşımları genel hatları ile gösterilmektedir.

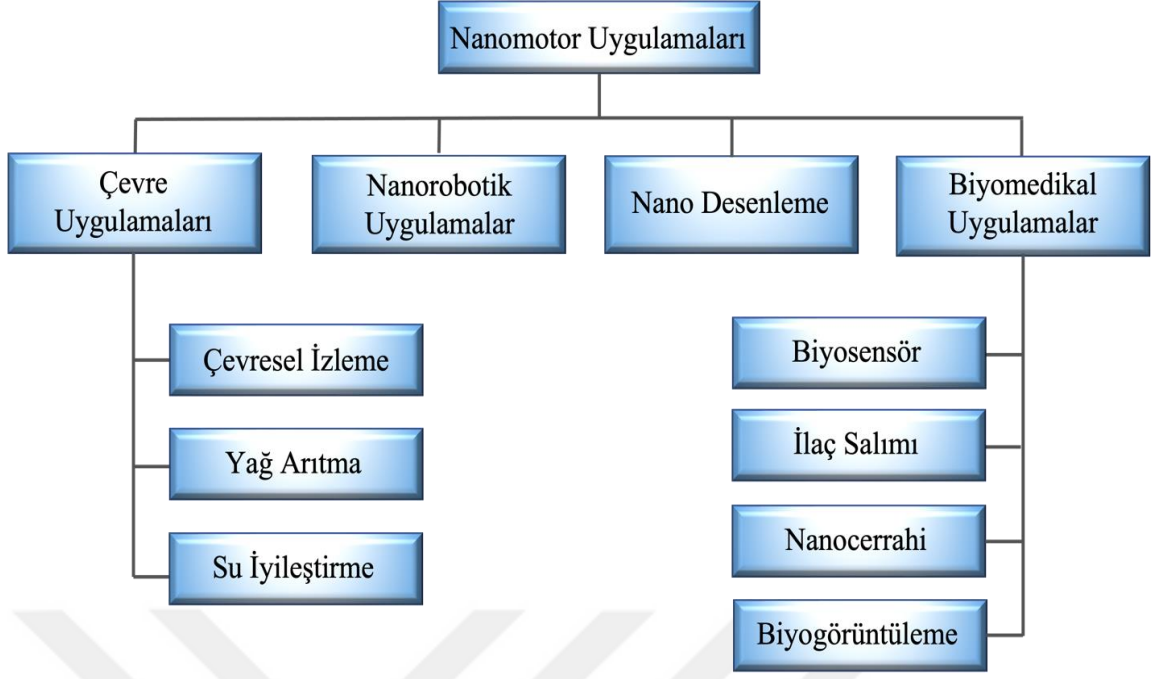


Şekil 2.2. Motorların sentez aşamaları [41].

2.1.4. Nano/Mikromotor Uygulamaları

Nanomotorlar ait oldukları sınıflar içerisinde birden fazla uygulama alanı yaratan, barındırdıkları farklı hareket mekanizmaları gibi özellikleri ile de farklı uygulama

alanlarını oldukça zenginleştirme potansiyeline sahip önemli yapılar olarak göze çarpmaktadır. Katalitik nano/mikro motor sınıfı hidrojen peroksit gibi kimyasal yakıtlar varlığında barındırdıkları kompozisyon ve geometriden fayda sağlayarak gerçek sistem uygulamalarında dikkate değer kontrollü hareket ve hız özellikleri gösterebilmektedir. Biyolojik sistemler için kullanılan hidrojen peroksit gibi yakıtların toksisite özellikleri her ne kadar limitleyici bir faktör olarak göze çarpsa da minyatürleştirmeye açık sensör aygıtları, kontrollü ilaç salımı, nanocerrahi ya da kirli suların temizlenmesi gibi çevresel uygulama alanlarında nano/mikromotor kullanımı literatür uygulamalarında başarıyla gösterilmektedir [56, 60, 61]. Şekil 2.3'te nano/mikromotor yapılara ait uygulama alanları özetlenmektedir. Bu uygulama alanları temel alındığında, sentetik motorların özellikle biyomedikal uygulamalar açısından ümit verici sonuçlara sebep olması oldukça dikkat çekmektedir. Bu uygulamalarda, ortaya konulmuş *in vitro* çalışmalar gelecekte *in vivo* çalışmaların daha sıklıkla ve kolaylıkla hayata geçirileceğini işaret etmektedir [13, 33, 62-64]. Kanseri gibi çağımızın tehlikeli ve ölümcül hastalıkları düşünüldüğünde; halihazırda sürdürülen *in vitro* ve *in vivo* nanomotor çalışmaları, bu yapıların kanser tanı ve tedavisi gibi önemli alanlarda da salt görüntüleme ajanı olarak değil, aynı zamanda teşhis ve tedavi edici unsurlar olarak da ele alınabileceğini göstermektedir [65]. Canlıya enjekte edilebilecek veya vücuda yerleştirilebilecek, hedefe yönelik kontrollü harekete sahip motorlar ile önemli mesafeler katedileceği aşikardır. Bu aşamada, hastalıkların erken ve hızlı tespitine yönelik olarak geliştirilen tanı/teşhis veya (biyo)sensör araştırmaları oldukça heyecan vericidir [15, 54, 66, 67].



Şekil 2.3. Nanomotor yapılarına ait uygulama alanları [40, 41].

2.1.4.1. Hastalık Teşhisi ve Sensör Amaçlı Motor Uygulamaları

Nano ölçekli makinelerin farklı hastalıkların tanısında kullanılabilecek teşhis ve tanı amaçlı uygulamaları ilgi çekmektedir. Ayrıca, bu nano ölçekli insan yapımı makineler (biyo)sensör amaçlı kullanılarak yüksek hassasiyetle kantitatif sonuç üretebilir. Bu çalışmalarda ana hedef duyarlı, hızlı ve seçici platformların tasarlanması ve geliştirilmesidir. Bu uygulamalarda hareket mekanizmasına sahip yapıların etkin bir şekilde kullanımı ve klasik sistemlere sağlayabileceği avantaj ve üstünlükler vurgulanmaktadır. Örneğin, nano/mikromotorlar biyobelirteç olarak kullanılabilecek proteinlerin izolasyonu ve tayini, deoksiribonükleik asit (DNA) tayini, ribonükleik asit (RNA) tayini, hücre tanıma ve izolasyonu ve diğer önem arz eden biyomoleküllerin tayini gibi araştırmalarda başarı ile kullanılmışlardır [68-70]. Yapılan çalışmalar motor yüzeylerinin hedef analiti tanıyan ve spesifik olarak etkileşime giren biyomoleküllerle immobilize edilmesi veya fonksiyonelleştirme işlemlerine tabi tutulma aşamalarının araştırmanın etkinliği ve ortaya konulan analitik sistemin performansının ortaya çıkarılabilmesi adına oldukça önemli etkenler olduğunu göstermektedir [46, 71-74]. Katalitik tübüler veya çubuk/tel şeklindeki yapılar ele alındığında ise dış yüzeylerin veya bir segmentin polimer ya da altın olması fonksiyonelleştirme, modifikasyon ve immobilizasyon aşamalarını kolaylaştırmaktadır [67, 75]. Yapılan çalışmalarda işaret

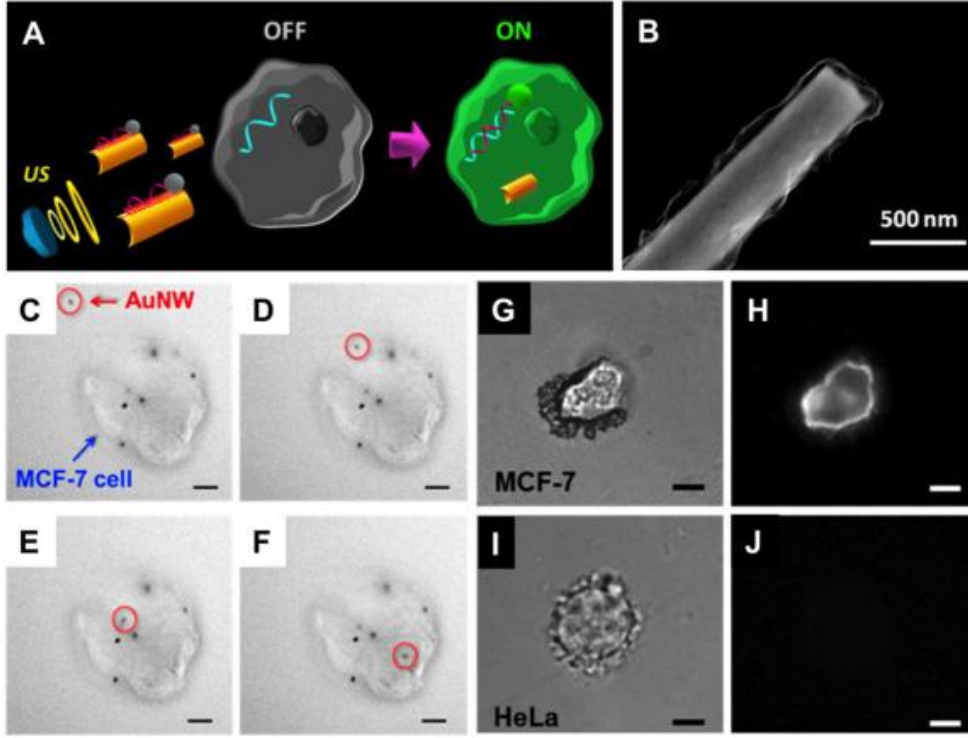
edilen bir diğerk durum ise fonksiyonelleştirme işlemleri sonrası nanomotora ait yük arttıkça ve sulu çözeltili ortamından gerçek ortamlara (serum, hücre ortamı, idrar gibi) geçildikçe motor hızlarının azaldığıdır [15, 76].

Fonksiyonel motorların tasarlanması hedefi göz önünde bulundurulduğunda özellikle tübüler katalitik motorların hazırlanmasında sağladıkları avantajlar ve çoğuzaman kendi sahip oldukları fonksiyonel gruplar ile immobilizasyon ve modifikasyon basamaklarını kolaylaştırmaları ve azaltmaları nedeniyle iletken polimer temelli motorlar öne çıkmaktadır. Örnek vermek gerekirse, 2012 yılında yayınlamış olan bir çalışmada Kuralay ve çalışma arkadaşları elektrokimyasal yöntemlerle hazırlamış oldukları poli(3-aminofenilboronik asit) (PAPBA)/Ni/Pt motorlar ile monosakkaritlere duyarlı bir sistem geliştirmişlerdir [46]. Polimerik yüzey sayesinde motor yüzeyine ayrı bir modifikasyona gerek kalmamıştır. Ayrıca, bu makineler glikoz inkübe edilmiş polistiren partikülleri bir ortamdan başka bir ortama rahatlıkla taşıyabilmişlerdir. 2013 yılında Orozco ve arkadaşları tarafından literatüre kazandırılmış bir çalışmada protein tayini ve izolasyonu için PEDOT/Pt-Ni ve fluoresein izotiyosiyanat (FITC) işaretili avidin (Av-FITC) ile moleküler baskılama yöntemine dayalı yapılar hazırlamıştır [77]. Bu motorlar serum ve tükürük örneklerinde rahatlıkla hareket ederek hedef protein molekülünü tanımıştır. Nguyen ve Minteer 2015 yılında yayınlanmış olan çalışmalarında PEDOT/Au motor yapıları sentezleyerek prop DNA immobilize etmişler ve hedef DNA'yı tayinde kullanmışlardır [78]. PEDOT/Au motorların merkaptoundodekanoik asit ile muamale edildiğı ve sonrasında karboksil gruplarının N-hidroksisüksinimit (NHS) ve 1-(3-dimetilaminopropil)-N'etilkarbodiimit hidroklorür (EDC) ile aktive edildiğı çalışmada oluşturulan yüzey DNA tayini için tasarlanmıştır. Daha yakın zamanlı literatür çalışmaları incelendiğinde ise Escarpa ve grubu tarafından sentezlenmiş spesifik antikor immobilize dış katmanı polipirol olan mikromotorlar göze çarpmaktadır [79]. Bu motorlar, vücutta bakteriyel enfeksiyonların varlığını belirlemek amacıyla belirleyici bir unsur olarak kullanılan prokalsitonin (PCT)'in floresans temelli immuno tayininde kullanılmışlardır. Polipirol dış katmana sahip motorların iç katmanları manyetik yönlendirmeyi sağlayan Ni tabaka ve katalitik tabaka olan Pt nanopartiküllerden oluşmaktadır. Erken doğan bebeklerden alınan klinik örneklerde PCT antijeninin teşhis sınırı 0,07 ng/mL, sensörün çalışma aralığı ise 0,5-150 ng/mL olarak bulunmuştur. Tüm bu çalışmalar, laboratuvar yapımı nano ölçekli sistemlerin etkin performansını açığa çıkarmaktadır.

2.1.4.1.1. Kanser Tanısı Amaçlı Motor Uygulamaları

Kanser, tüm dünyada en çok ölümlü sonuçlanan tehlikeli hasatlıklardan biridir [15, 41]. Bu ciddi hastalığın kesin tedavi yöntemlerinin henüz bulunamamış olması araştırmacıları erken ve doğru teşhis üzerine yeni teknolojilerin bulunmasına teşvik etmektedir. Bu bağlamda, nano/mikromotorlar ile gerçekleştirilmiş olan araştırmalar dikkat çekicidir ve bu yapılar enerjiyi harekete çevirme özellikleri sayesinde klasik teşhis yöntemlerine üstünlükler sağlayabilir. Kanseri hücre tanısı, kanserli hücrelerin hücre zarları ile etkileşim ve tümör hücrelerinin izolasyonu gibi hedeflere yönelik geliştirilen motor yapılar sadece kanserli hücrenin teşhisinde değil, aynı zamanda antikanser ilaçlarının kanserli hücre ortamına hedef temelli olarak taşınması gibi uygulamalarda da geleneksel kanser tanı ve tedavi yöntemlerine umut verici alternatifler oluşturabilmektedir [15, 67]. Örneğin, güncel literatür çalışmalarından bazıları biyolojik hücre içi taşıma ajanlarının yardımı olmaksızın miRNA ve DNA gibi önemli moleküler yapıları kanserli hücre hatları ile etkileşime geçirmekte kullanılan nanoyapıların sentezini başarı ile gösteren örnekler sunmaktadır [80]. Grafen oksit (GO) ile kaplanmış altın nanotellerden oluşan ve Esteban-Fernández de Ávila ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, yapılar harici ultrasonik ses yardımı ile hareket özellikleri göstermiştir. Çalışmada, boya ile işaretlenmiş tek sarmallı DNA (ssDNA) molekülleri, nanotel yüzeyine immobilize edilmiş ve hücre içerisindeki hedef endojen mikroRNA (miRNA) ile etkileşime tabi tutulmuştur. miRNA'ların kanser biyobelirteci olarak kullanıldığı bilinmektedir. ssDNA ve hedef endojen miRNA etkileşime girdiğinde, hibritleşmemiş durumdaki ssDNA'lardan gelen floresans sinyali, güçlü π - π etkileşimleri ile GO tarafından sönmelenmiş ve floresans sinyalindeki azalma ile sentezlenen nanoyapı ve hücre arasındaki etkileşim karakterize edilmiştir. Bu yapıların *in vivo* çalışmalar ile MCF-7 meme kanser hücre hattı etkileşimleri de araştırılmış ve mevcut miRNA algılama yöntemlerine alternatif, hassas ve hızlı teşhisler ssDNA@GO ile fonksiyonelleştirilmiş altın nanoteller (AuNW'ler) yardımı ile gösterilmiştir (Şekil 2.4). Karaca ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise Au/PEDOT/Pt motorlar miRNA-21'i tanıyan prob DNA ile immobilize edilmişlerdir [67]. Elektrokimyasal yöntemlerle hazırlanan yapılar 6-karboksiflorosein (6-FAM) ile işaretli prob DNA ile etkileştirildikten sonra (DNA/Au/PEDOT/Pt/MMs) farklı kanser hücreleri (insan MCF-7 meme kanseri hücre hattı, insan SJSA-1 osteosarkom hücre hattı, A-549 akciğer

epitelyal karsinoma hücre hattı ve HT-29 insan kolorektal hücre hattı) ile çalışmaları yapılmıştır. MCF-7 ve SJSA-1 hücre hatlarında bulunan ve kanser biyobelirteci olarak kullanılan miRNA-21 ile hibridizasyona uğrayan nihai motorlar kanserli hücrelerin seçimli olarak tespitini sağlamıştır.



Şekil 2.4. Ultrason tahrikli ssDNA@grafen oksit (GO) ile fonksiyonelleştirilmiş altın nanoteller ile miRNA'ların hücre içi tespiti. (A) Sağlam kanser hücrelerinde miRNA-21'in spesifik tespiti için “KAPALI-AÇIK” floresan anahtarlama sisteminin şematik çizimleri. (B) GO ile değiştirilmiş nanotelin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü. (C-F) Modifiye edilmiş bir nanomotorun (kırmızı daire) tek bir MCF-7 hücresine (mavi ok) etkileşim sürecini gösteren 4 saniyelik aralıklarla hızlandırılmış gerçek zamanlı görüntüler: diğer bazı nanomotorlar zaten etkileşmişken bazıları zar üzerinde sıkışmış durumdadır (Ultrason alanı: 6 V ve 2,66 MHz, Ölçek çubuğu: 10 μ m). (G-J) Farklı hücre dizilerinde miRNA-21'in spesifik tespiti. Ultrason alanı (6 V ve 2.66 MHz) altında ssDNA@GO ile modifiye edilmiş nanomotorlarla 10 dakikalık inkübasyondan sonra sırasıyla tek bir MCF-7 (G ve H) ve HeLa hücrelerinin (I ve J) optik ve floresans görüntüleri (Ölçek çubuğu:10 μ m) [80].

Literatür özetinden de anlaşılacağı üzere nano/mikromotorların biyomedikal uygulamaları yapıların önem taşıyan özelliklerindendir. Yapıların hedefe yönelik hareket etme yetileri; teşhis, tedavi ve hedefe yönelik ilaç salımı gibi süreçleri kolaylaştıran yeni metotlar içermektedir. Güncel literatür çalışmaları, nanomotor yapıların yüzeylerine yerleştirilen aptamerler ve antikorlar ile, hedef molekülleri arasında yüksek afinite ile etkileşim gösteren ve nanomotor yapıları hastalık teşhis ve tedavi süreçlerinde reseptör olarak kullanılabilen çalışmalar sunmaktadır [81]. Özellikle polimerik dış katmanlar içeren nanomotorlar, üzerlerinde hareket kontrolü ve seçicilik gibi özellikler kazandıran fonksiyonel alanlar yaratarak, otonom hareket özellikleri ile kullanım alanlarını genişletmekte ve güçlendirmektedir [82]. Bu çalışmalar, motor yapıların kanser gibi tehlikeli hastalıklarının hızlı ve doğru tespitinde kullanılabileceğini göstermektedir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Sarf Malzemeler

PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-3-COOH kopolimer temelli nanomotorların sentezi, polikarbonat (PC) membranlarda membran-kalıp tekniğine göre gerçekleştirilmiştir. Polikarbonat membranlar, Whatman'dan temin edilmiş olup 2 µm çapındadır (Catalog No 7060-2511; Whatman, Maidstone, İngiltere). Sentez aşamalarında kullanılan 3,4-etilendioksitiyofen karboksilik asit (EDOT-COOH) (95%), 3,4-etilendioksitiyofen (EDOT) (97%), pirol-3-karboksilik asit (PPy-COOH) (≥96%) ve pirol (Py) (98%) monomerleri Sigma-Aldrich'ten alınmıştır. Elektropolimerizasyon ortamında kullanılan dopant (katkı maddesi) lityum perklorat (LiClO₄) ve sodyum dodesil sülfat (SDS) Sigma-Aldrich'ten tedarik edilmiştir. Sürfaktan olarak kullanılan Triton X-100 de aynı firmadan elde edilmiştir. Sentez aşamasında metal kaplamada kullanılan altın kaplama çözeltisi Orotemp 24 RTU RACK (Technic, Inc., Anaheim, CA, ABD), platinum kaplama çözeltisi ise RTP (Technic Inc., Anaheim, CA, ABD)'dir. Membran yıkama aşamalarında yer alan etanol %99,98 saflık derecesine sahip olup Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Hücre kültür çalışmalarında kullanılan fetal sıgır serumu (FBS), Dulbecco's modifiye Eagle besiyeri (DMEM), penisilin-streptomisin, tripsin/etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), dimetilsülfoksit (DMSO) ve fosfat tampon salin (PBS) Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Diğer tüm kimyasallar Sigma-Aldrich ya da Merck'tir. Deneysel çalışmalarda yer alan kimyasallar analitik saflık seviyesindedir ve alındığı hali ile herhangi bir ön işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

3.2. Nanomotorların Hazırlık ve Karakterizasyon Aşamalarında Kullanılan Cihaz ve Aparatlar

Nanomotor sentez ve karakterizasyon çalışmaları CHI 720E (CH Instruments Inc., ABD) ve Autolab-PGSTAT 204 (Metrohm, Hollanda) elektrokimyasal çalışma ünitelerinde gerçekleştirilmiştir. Autolab-PGSTAT 204 cihazı NOVA 1.11 ve NOVA 2.1 yazılımları ile desteklenmiştir. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) deneylerinde, bu potansiyostat/galvanostat sistemine entegre edilen FRA32M modülünden faydalanılmıştır. Nanomotora ait optik mikroskop görüntüleri ve video çalışmaları Zeiss Axio Vert. A1 FL markalı (Carl Zeiss AG, Almanya) floresan

ataçmanlı ve Andor Zyla VSC-02912 kamera ile bütünleştirilmiş Nikon Instrument Inc. Optic LV100ND (Nikon, Japonya) floresan ataçmanlı mikroskoplarda gerçekleştirilmiştir. Nanomotorların hız takibi ve ölçümü işlemlerinde açık kaynaklı bir uygulama olan ImageJ yazılımından faydalanılmış, ImageJ yazılımının takip uzantısı ile nanomotorların hızları hesaplanmıştır. Bu uygulamada takip eklentisi kullanılarak çekilen nanomotor videosunun fps özelliğine göre, nanomotorların her karedeki pozisyonları işaretlenmiş ve yol haritası çıkarılmıştır. Aynı esnada birim zamanda aldıkları mesafeden yola çıkarak hız tespiti gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada en az 50 ölçüm baz alınmıştır. Hazırlanan nanomotorların morfolojik yapıları ve elementel kompozisyonları FEI Quanta FEG 250 Model (Thermo Fisher Scientific, ABD) taramalı elektron mikroskopu-enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (SEM-EDX) cihazı ile incelenmiştir.

Sentez deneylerinde kullanılan elektrokimyasal hücre geleneksel üçlü elektrot sisteminden oluşmaktadır [46, 67]. Çalışma elektrodu altın (Au) kaplı polikarbonat membrandan oluşmaktadır. Membran yüzeylerine altın kaplama süreçleri püskürtme (sputter) kaplama cihazı (Plazmatek, Türkiye) ile yapılmış olup, kaplama işlemi oda sıcaklığı seviyesinde, 9 mTorr vakum altında 25 W Radyo Frekansı (RF) gücünde ve Argon gazı akışı varlığında 75-80 nm kalınlık seviyesinde olacak şekilde hazırlanmıştır [70]. Üçlü elektrot sisteminde referans elektrot olarak Ag/AgCl (BASi, Lafayette, ABD) kullanılırken, karşıt elektrot olarak Pt tel (BASi, Lafayette, ABD) deneyler süresince kullanılmıştır. Elektrot sistemi teflon hücreye yerleştirilerek polimer temelli nanomotorlar fabrike edilmiştir.

3.3. Nanomotorların Sentezi

Poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT)/poli(3,4-etilendioksitiyofen) karboksilik asit (PEDOT-COOH) (PEDOT/PEDOT-COOH) ve polipirrol (PPy)/poli(pirrol-3-karboksilik asit) (PPy/PPy-COOH) temelli tübüler katalitik motorlar elektrokimyasal yöntem (akım zaman, i-t/sabit gerilimde elektroliz) kullanılarak membran-kalıp tekniğine göre hazırlanmıştır [13, 83, 84]. Sentezlenen yapılara ait iç boşlukları nanometre boyutunda elde edilmiştir.

3.3.1. PEDOT/PEDOT-COOH Temelli Nanomotorların Hazırlanması

PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorları sentezlemek için farklı oranlarda monomer derişimlerinde hazırlanan çözeltiler kullanılmıştır. Bu amaçla EDOT/EDOT-COOH çözeltisi; EDOT 20 mM, LiClO₄ 7,5 mM ve SDS 100 mM olacak şekilde hazırlanmıştır ve bu değerlere bağlı kalarak monomer oranları değiştirilmiştir. Bu aşamada hedef hem yapısal hem de hareket açısından en iyi derişim oranını tespittir. Monomer oranları 3:1, 4:1, 5:1 ve 6:1'dir. Kopolimerik tabakaların oluşumu için, monomer çözeltileri kullanılarak +1,0 V'luk bir sabit gerilimde sistemden yaklaşık olarak 0,5 C'luk yük geçirilmiştir. Devamında iç tabakalarda kalan metaller biriktirilmiştir. Önce ince bir Pt filmi -0,5 V'da 50 sn, sonrasında ise Pt-Ni alaşımı -1,0 V'da 300 sn olarak kaplanmıştır. En iç tabaka olarak kaplanan katalitik tabaka ise Pt segmentten oluşmaktadır. Bu aşama -0,5 V'da 180 sn boyunca gerçekleştirilerek nihai yapı oluşturulmuştur [13, 46, 84].

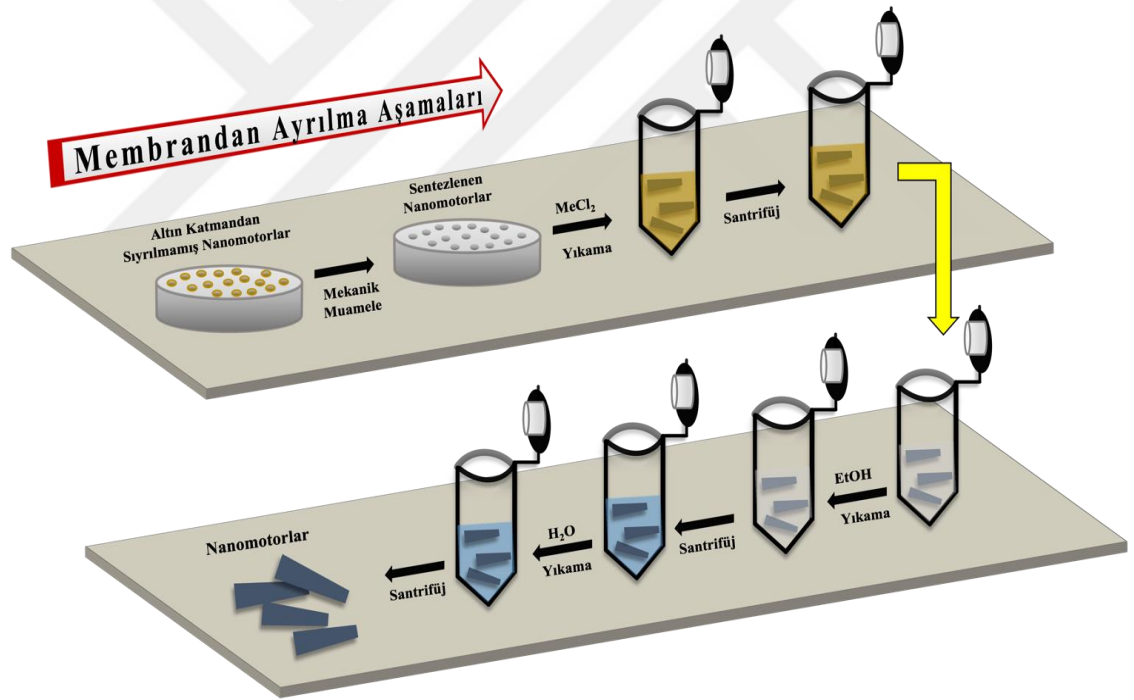
3.3.2. PPy/PPy-COOH Temelli Nanomotorların Hazırlanması

PPy/PPy-COOH temelli nanomotorları sentezlemek için farklı oranlarda monomer derişimlerinde hazırlanan çözeltiler kullanılmıştır. Bu amaçla Py/Py-COOH çözeltisi; Py 20 mM, LiClO₄ 7,5 mM ve SDS 100 mM olacak şekilde hazırlanmıştır ve bu değerlere bağlı kalarak monomer oranları değiştirilmiştir. Monomer oranları 3:1, 4:1, 5:1 ve 6:1'dir. Kopolimerik tabakaların oluşumu için, monomer çözeltileri kullanılarak +1,0 V'luk bir sabit gerilimde sistemden yaklaşık olarak 0,5 C'luk yük geçirilmiştir. Devamında iç tabakalarda kalan metaller biriktirilmiştir. Önce ince bir Pt filmi -0,5 V'da 50 sn, sonrasında ise Pt-Ni alaşımı -1,0 V'da 300 sn olarak kaplanmıştır. En iç tabaka olarak kaplanan katalitik tabaka ise Pt segmentten oluşmaktadır. Bu aşama -0,5 V'da 180 sn boyunca gerçekleştirilerek nihai yapı oluşturulmuştur [13, 46, 84].

3.3.3. Sentezlenen Nanomotorların Membrandan Ayrılması

Hazırlanan nanomotor yapıların konik şekildeki polikarbonat membranlardan ayrılma basamakları çözme ve yıkama süreçlerini içermektedir. Nanotübüler yapıların iç ve dış katmanlarının hazırlıklarının tamamlanmasının akabinde öncelikli olarak altın segment

3-4 μm alümina çamurunda kulak çubuğu kullanımı ile mekanik olarak muameleye maruz bırakılmıştır. Bu işlemin ardından hazırlanan membranlar, metilen klorür (MeCl_2) içerisinde 20 dakika süre ile tutulmuş ve yıkama süreçleri tamamlanmıştır. Santrifüj işlemi 6000 rpm’de 3 kez metilen klorür çözeltisi içerisinde (her bir işlem 3 dakika sürecek şekilde), 3 kez etanol (EtOH) çözeltisi içerisinde (her bir işlem 3 dakika sürecek şekilde) ve 3 kez saf su içerisinde (her bir işlem 2 dakika sürecek şekilde) tamamlanmıştır. İşlemin en son basamağında ise yaklaşık 30 sn vorteks uygulaması yapılmıştır [13, 46]. Vorteks işleminden sonra dibe çöken nanomotorlar deiyonize suda askıda bırakılmış ve membrandan ayrılan bu yapılar, morfolojik ve hareket özelliklerinin tespiti için optik mikroskop yardımı ile incelenmiştir. Aşağıdaki şekilde (Şekil 3.1) membranı çözme, nanomotorları membrandan ayırma ve yapıları yıkama aşamaları basamak basamak gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Nanomotorların polikarbonat membrandan ayrılma basamakları.

3.4. Nanomotorlara AntiHER2 İmmobilizasyonu

3.4.1.1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodimit/N-hidroksisüksinimit (EDC/NHS) ile Nanomotor Yüzeylerinin Aktivasyonu

Sentezlenen nanomotorların en dış katmanı olan polimerik tabakada bulunan fonksiyonel grupların (–COOH temelli polimerler) aktivasyon işlemini sağlamak amacıyla, en uygun koşullar altında hazırlanan nanomotorlar çöktürülerek destile suda hazırlanmış 10 mM 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodimit (EDC) ve 20 mM N-hidroksisüksinimit (NHS) karışımında 15 ve 30’ar dk inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. Literatürce elde edilen verilere göre yukarıda anlatımı yapılan sürecin nanomotor yapısında da bulunan fonksiyonel grupları aktive ettiği gösterilmektedir [66].

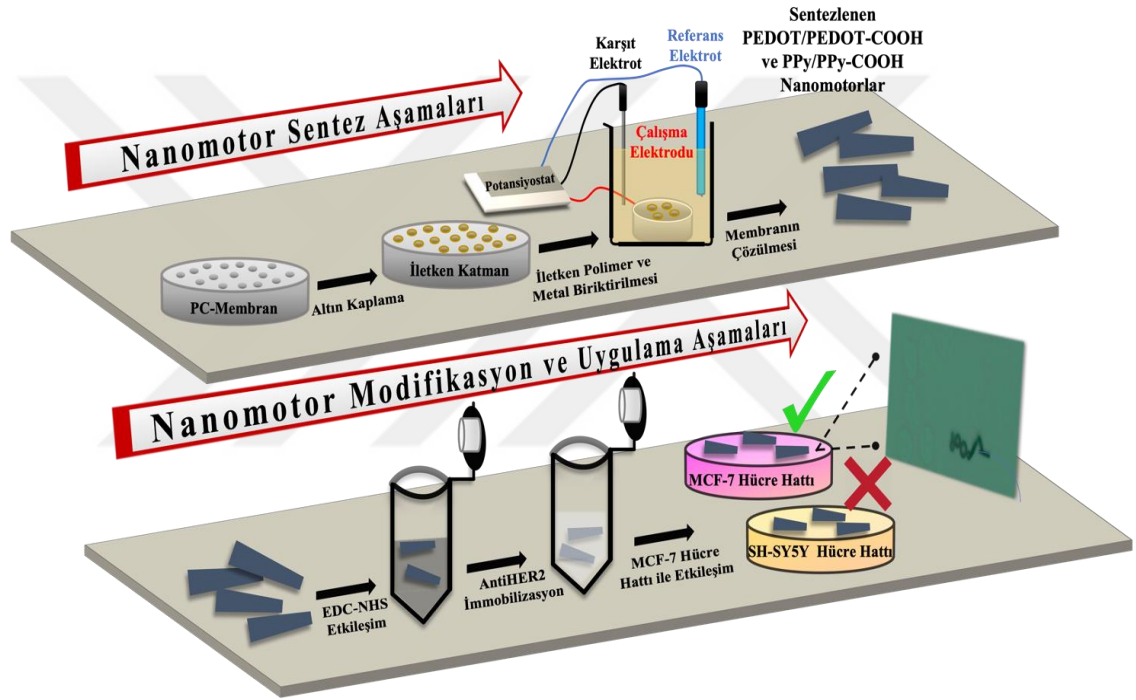
3.4.2. AntiHER2 İmmobilizasyonu

Derişim değeri olarak; 5 µg/mL antiHER2 antikor çözeltisi 50 mM fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde hazırlanmıştır [85]. Bu işlemin akabinde ise EDC/NHS ile muamale görmüş nanomotorlar 30 ve 60’ar dk boyunca antiHER2 antikoru ile inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemin akabinde ise sığır serum albümin (BSA) içeren pH 7,4 fosfat tamponunda nanomotorlar bekletilerek yıkama işlemleri tamamlanmıştır.

3.5. Hücre Kültürü Çalışmaları

Sentez işlemi sonrası elde edilen nanomotorların yüzeylerine kanser teşhisi ve tedavisinde sıklıkla kullanılan antikorlardan birisi olan antiHER2 immobilizasyonu sonrası gerçekleştirilen *in vitro* deneylerde kullanılan hücre hattı, meme kanseri hücre hattı (insan meme adenokarsinoma hücre hattı, MCF-7 meme kanseri hücre hattı)’dır. Eş zamanlı olarak kontrol deneyleri ise insan neuroblastoma hücre hattı olan SH-SY5Y ile sürdürülmüştür. AntiHER2 antikorunun nanomotorların üzerine immobilizasyonu sonrası kanserli hücre hattı ile etkileşeceği literatür verileri ile de desteklenmiş ve halihazırda paylaşılmıştır [86]. AntiHER2 antikoru literatürde etkileşim ve biyotanıma amaçlı kullanılmaktadır. MCF-7 hücreleri Dulbecco's Modified Eagle Besiyeri (DMEM)’nde T75 flasksında, SH-SY5Y hücreleri ise 37 °C sıcaklık altında %5 CO₂ ortamının altında %10 fetal sığır serum (FBS), %1 penisilin/streptomisin, 2 mM L-

glutamin katkılı Eagle's Minimum Esansiyal Besiyeri (EMEM)'nde kültüre edilmişlerdir. Hazırlanmış olan hücre plakaları %80'lik bir seviyede yoğunluğa ulaştığında besi ortamında büyütülen hücreler %0,25 tripsin/EDTA yardımı ile kaldırılmış ve 1500 rpm'de 4 dakika santrifüj işlemi uygulanarak çöktürülmüştür. Bu işlemin akabinde ise süpernatant atılmış ve pelet halindeki hücreler 1 mL FBS ile dağıtılmışlardır. Bu çalışmalar steril malzemelerle ve akış biyokabininde gerçekleştirilmiştir [87]. Nanomotorlara ait sentez ve uygulama aşamaları Şekil 3.2'de özetlenmektedir.



Şekil 3.2. Nanomotorlara ait sentez ve uygulama aşamaları.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında meme kanseri hücre hattı (insan meme adenokarsinoma hücre hattı, MCF-7 meme hücre hattı) ile spesifik olarak etkileşime giren ve bu hücre hattını diğer hücre hatları arasında tanıyarak yakalayan nanomotorların sentezlenmesi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, dış katmanı PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH kopolimerleri olan nanomotorlar iletken polimer-metal nanotüpleri halinde membran-kalıp tekniğine göre elektrokimyasal yöntemlerle hazırlanmıştır. Membran-kalıp tekniğinde kalıp olarak kullanılan polikarbonat membranda konik ve tübüler yapılar oluşturulmuştur [13, 33, 46]. Elektrokimyasal kaplama teknikleri ve elektrokimyasal polimerizasyon, nanomotor/mikromotor fabrikasyon çalışmalarında homojen, tekrarlanabilir ve seri yapıların hazırlanması adına oldukça büyük avantajlar sağlamaktadır [19, 37]. Tez çalışmalarına yönelik literatürde benzer bir çalışma bulunmaması çalışmanın özgün değerini ortaya koymaktadır. Literatürde kanser hücresi tanıyan sadece bir nanomotor temelli çalışma bulunurken yapılan çalışmada; bağırsak, pankreas ve mide kanserlerinde sıklıkla kullanılan bir antikör kullanılmıştır ve bu çalışmada kullanılan ilave yüzey modifikasyonları, nanomotorun hızını ve dolayısıyla ömrünü azaltmaktadır [66]. Tez çalışmalarında yer alan fonksiyonel yüzey esaslı iletken polimer temelli nanomotorlar ile bu dezavantaj bertaraf edilebilmiştir. Tez çalışmaları kapsamında öne çıkan özgün değerler şöyle özetlenebilir:

- PPy/PPy-COOH nano/mikromotorlar ilk kez sentezlenmiştir.
- Meme kanseri tanısında henüz nanomotora dayalı bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca, AntiHER2 immobilize motora dayalı bir çalışma henüz geliştirilmemiştir.

Gerçekleştirilen deneysel çalışmalar ise şu şekilde sıralanabilir:

- Nanomotorların sentezlenmesi,
- Nanomotorların SEM ve EDX ile karakterizasyonu,
- Kullanılan MCF-7 ve SH-SY5Y hücrelerinin kültüre edilmesi,
- Nanomotor yüzeylerinin EDS/NHS ile muamele edilmesi ve antiHER2 antikörünün immobilizasyonu,

- MCF-7 hücre hattı ile nanomotorların etkileştirilmesi,
- SH-SY5Y ve anti insan albumin antikoru ile kontrol deneylerinin yapılması,
- Elektrokimyasal karakterizasyon ve etkileşim çalışmaları,
- Tetrazolyum testi (MTT) yapılarak meme kanseri hücre hattı ile etkileşen nanomotorların sitotoksikite deneylerinin yapılması.

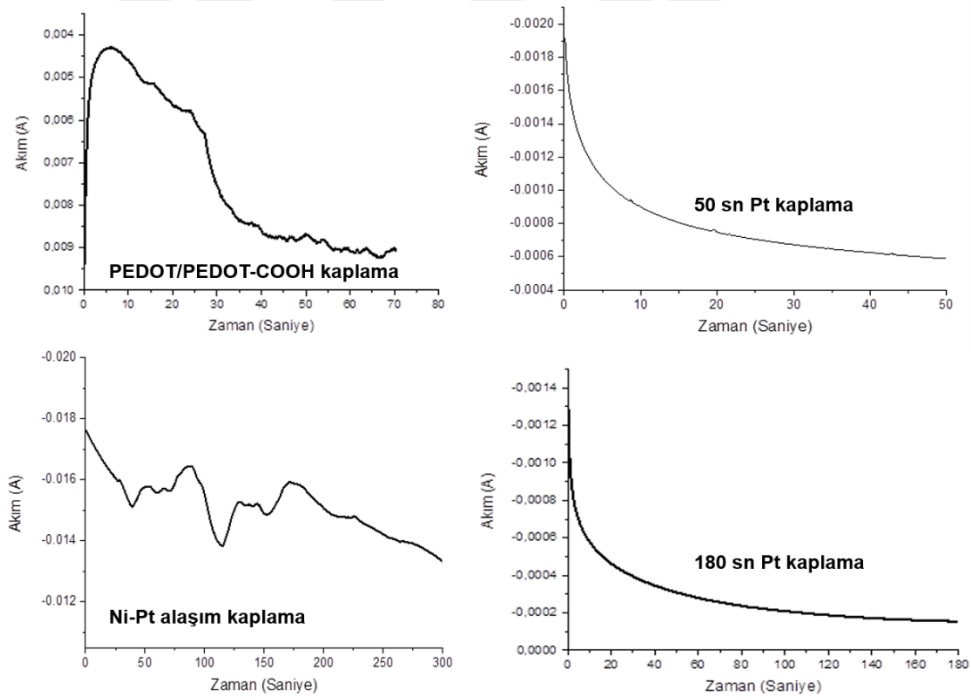
4.1. PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH Temelli Tübüler Katalitik Nanomotorların Sentezi

Sentez çalışmalarında çalışma elektrodu olan Au kaplı polikarbonat membranın alt tarafa yerleştirildiği teflon bir hücreden faydalanılmıştır. Konik şeklindeki polikarbonat membranların Au film ile kaplaması püskürtme (sputter) kaplama cihazı ile yapılmıştır. Bunun için literatürde 50-100 nm’lik bir Au kaplamanın yeterli olduğu bilinmektedir [46, 67]. Bu işlem 9 mTorr vakum altında 25 W Radyo Frekansı (RF) gücünde ve Argon gazı akışında oda sıcaklığında 75 nm’lik bir kaplama elde edecek şekilde yapılmıştır [70]. Çalışma elektrodu teflon hücrenin altına yerleştirilmiştir ve elektrot bağlantısının sağlanması ve bağlantıda kopukluk olmaması için araya vida ile teflon hücreyi sabitlemeden önce alüminyum folyo yerleştirilmiştir. Devamında tübüler yapıları oluşturmak üzere polimerik segmentlerin ve metal segmentlerin biriktirme aşamaları gerçekleştirilmiştir. Biriktirme çalışmaları, akım-zaman (i-t), sabit gerilimde elektroliz ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem metalik kaplama ve polimerik kaplama çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir [46, 83]. Yapıların sentez aşaması, öncelikli olarak nanomotorların en dış katmanı olan iletken polimerlerin elektrokimyasal yöntem aracılığı ile biriktirilmesi ile başlamıştır. Bu aşamada +1,0 V’da sabit gerilimde sistemden yaklaşık olarak 0,5 C’luk yük geçirilmiştir. PEDOT-COOH ve PPy-COOH polimerlerinden oluşan nanomotor yapılar, üzerlerinde mevcut olan karboksilik asit fonksiyonel grupları sayesinde literatürde de desteklenen biyolojik çalışmalarda kullanılabilecek yüzeylerin oluşturulmasında tercih edilebilmektedir [76]. Nanomotor yapıları seçicilik özellikleri kazandıran dış yüzeylerindeki gruplar sentezlenen yapılar fazladan bir modifikasyon işlemi yapılmaksızın kullanımının önünü açmaktadır. Fakat, sentezlerde kullanılan 3,4-etilendioksitiyofen karboksilik asit (EDOT-COOH) ve pirol-3-karboksilik asit (Py-COOH) monomerleri elektrokimyasal polimerizasyon süreçlerinde tek başına kullanımdan ziyade karboksilik asit içermeyen iletken yapıları ile birlikte hazırlanarak kullanılmaktadır. Böylece son ürün olarak;

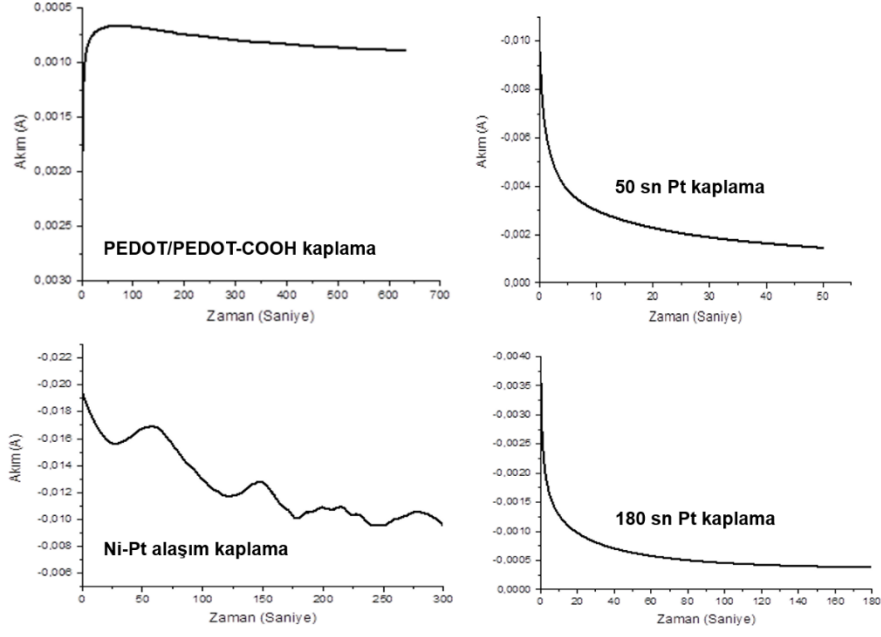
kararlı, elektriksel iletkenlik ve fiziksel olarak daha iyi özelliklere sahip fonksiyonel yüzeylerin hazırlanması mümkün olmaktadır [88]. Bu sebeple deneysel çalışmalar süresince elektrokimyasal polimerizasyon süreçlerinde kullanılan monomer oranlarının optimizasyon çalışmaları öncelikli olarak sürdürülmüştür. Elektropolimerizasyon süreçlerinde kullanılan monomerlerin derişim oranları; 3:1, 4:1, 5:1 ve 6:1 seviyelerinde tutularak, sabit gerilim altında yapıların oluşum süreçleri tamamlanmıştır. Sentezlenen nanotüp yapıların taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile morfolojik karakterizasyonunun tamamlanması öncesi, optik mikroskop aracılığı ile sentez ürünleri kontrole tabi tutulmuştur. Kullanılacak optimum monomer derişimlerinin tespiti için, yapıların morfolojik kontrollerinin yanı sıra sentezlenen yapıların hareket hızları da ölçülmüş ve nihai derişim optimizasyon süreçleri tamamlanmıştır. Katalitik tübüler nanomotor yapıların hareket özellikleri; düşük derişimlerde (%2,0-%10,0) kullanılan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve %5 Triton X (Triton X-100) sürfaktan varlığında sürdürülmüştür. Ayrıca deneysel çalışmalar süresince katalitik nanomotor yapıların sağlamlık ve hareket özellikleri %30 H_2O_2 gibi yüksek kimyasal yakıt varlığında da teste tabi tutulmuştur.

Sentezlenen katalitik nanomotorların öncelikli olarak polimerik dış tabakalarının oluşumunun akabinde iç tabakalarının oluşturulması süreçleri başlamıştır. Bu süreçlere yönelik; ince bir Pt filmi -0,5 V potansiyel altında 50 sn süre ile, Pt-Ni alaşımı ise -1,0 V potansiyel altında 300 sn süre ile biriktirilmiştir. Sentez ürünü yapıları katalitik özellik kazandıran en içteki metalik Pt segmenti ise -0,5 V potansiyel altında 180 sn süresince biriktirilmiştir. Böylelikle sentezlenen yapılar İletken Polimer/Pt/Pt-Ni/Pt tüpleri gösterimi ile kısaltılarak isimlendirilmiştir. En iç katmanda yer alan Pt tabakası, deneysel çalışmalarda ortamdaki kimyasal yakıt olan H_2O_2 'nin dekompozisyonunu katalizlemiş ve yapıları hareket özellikleri kazandırmıştır [31, 84]. Yapıların kontrollü hareket özelliklerini taşıması için manyetik özelliklere sahip nikel (Ni) tabakanın bulunması gerekmektedir [46, 71]. Harici bir mıknatıs kullanımı ile deneyler süresince sentezlenen katalitik nanomotorların kontrolü, özellikle hücrelere yönlendirilme aşamaları, Ni tabakanın yardımcı aracılığı ile sürdürülmüştür.

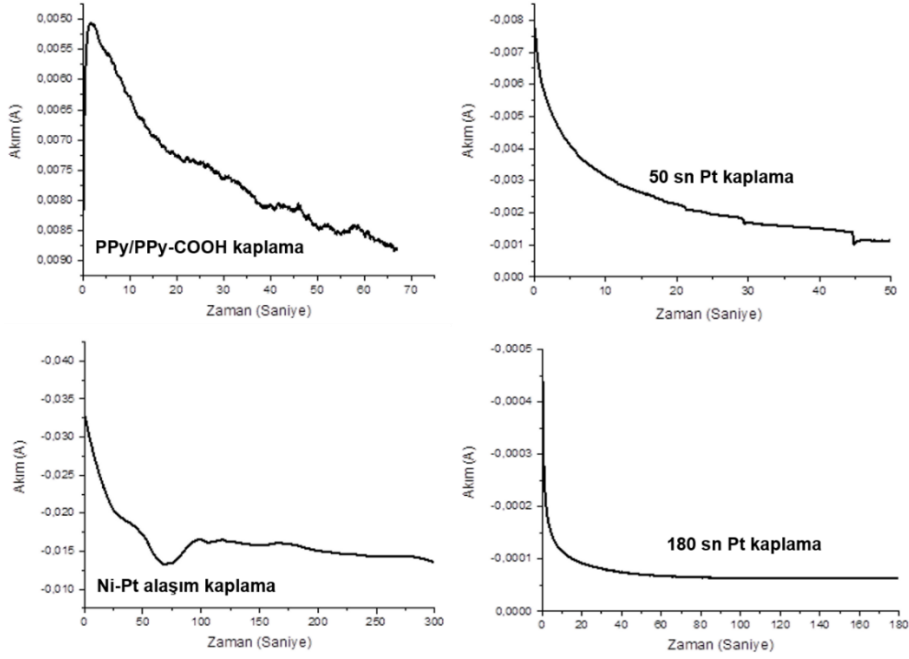
Nanomotor yapıların sentez aşamalarında, dopant olarak lityum perklorat (LiClO_4) tercih edilmiştir. Nanomotor çalışmalarını içeren bilimsel literatür çalışmalarından bazıları, potasyum nitrat (KNO_3) katkı maddesini kullanmanın hem çözünürlüğün iyi olması hem de sentez ürünlerine daha düz morfolojik özellikler kazandırması sebebi ile tercih edilebildiğini göstermektedir [19, 46]. Tez çalışması süresince kullanılan LiClO_4 , nanomotor sentez çalışmalarında ilk kez kullanılan bir katkı maddesi olmuştur. Ayrıca LiClO_4 'ün sentezlenen nanomotor yapılara biyomolekül etkileşim süreçlerinde daha pürüzlü ve etkileşim yüzey alanı daha geniş özellikler katması sebebi ile avantajlar kazandırabileceği düşünülmektedir [83]. PEDOT-COOH ve PPy-COOH kopolimer temelli nanomotorların hazırlanması sürecine ait elektrokimyasal eğrilere örnekler Şekil 4.1 – Şekil 4.4 aralığında verilmektedir. PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorlar için 3:1 monomer oranı gösterilirken, PPy/PPy-COOH temelli nanomotorlar için 6:1 monomer oranı gösterilmiştir. Ayrıca, KNO_3 varlığında yapılan sentez eğrileri de sunulmuştur.



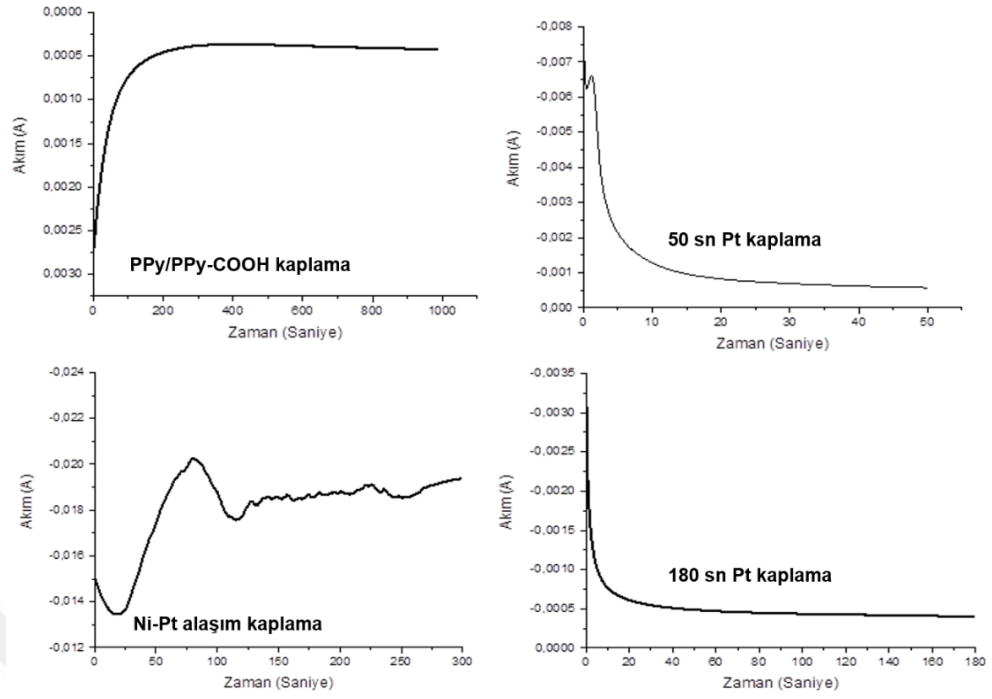
Şekil 4.1. PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorlara ait elektrokimyasal kaplama eğrileri (3:1 monomer oranı, LiClO_4 ortamı).



Şekil 4.2. PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorlara ait elektrokimyasal kaplama eğrileri (3:1 monomer oranı, KNO_3 ortamı).



Şekil 4.3. PPy/PPy-COOH temelli nanomotorlara ait elektrokimyasal kaplama eğrileri (6:1 monomer oranı, LiClO_4 ortamı).



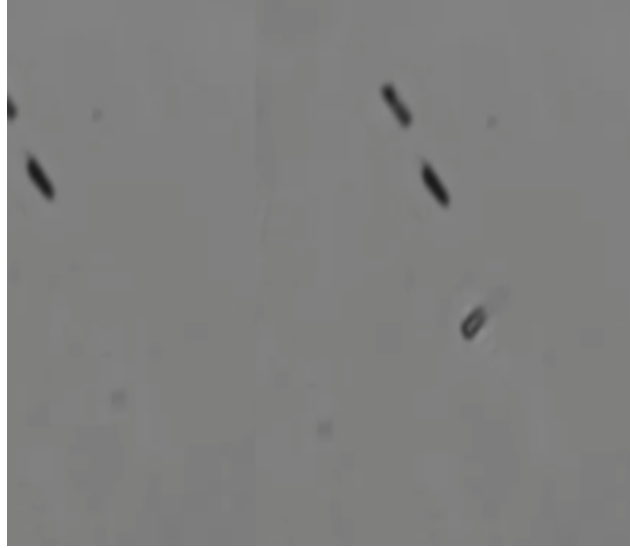
Şekil 4.4. PPy/PPy-COOH temelli nanomotorlara ait elektrokimyasal kaplama eğrileri (6:1 monomer oranı, KNO_3 ortamı).

Şekil 4.1-Şekil 4.4 incelendiğinde, her iki dopantın olduğu ortamda da elektropolimerizasyon süreçlerinin başarı ile gerçekleştiği fakat LiClO_4 dopantının olduğu deney koşullarında elde edilen akım değerinin bir miktar da olsa daha fazla olduğu görülmektedir. Bu iyileşme, LiClO_4 'ün nanomotor çalışmalarında daha önce işlevselliği test edilmiş KNO_3 'ün yanında alternatif olarak kullanılabileceği kanısını güçlendirmiştir. Elektropolimerizasyon süreçlerinin akabinde ise sentezlenen nanoyapıların uygunluğunu kontrol etmek amacı ile nanoyapıların polikarbonat membranlardan ayrılması aşamalarına geçilmiştir. Şekil 4.1-Şekil 4.4'te gözlemlenen eğriler incelendiğinde kaplama yapılırken mevcut yüzey alanının büyük olması sebebi ile yer yer akım skalasında değişimler gözlemlenmiştir. Fakat bu değişimler net elektropolimerizasyon süreçlerine önemli etkilerde bulunmamıştır. Nanomotor yapıların nihai elde edilmesi aşaması; elektrokimyasal olarak kaplanan membranların teflon hücreden çıkarılması ve nanomotor yapıların ayrılması için sürdürülen membranın çözülmesi ve yıkama işlemleri akabinde gerçekleşmiştir. En son basamakta santrifüj ile dibe çöktürülen nanomotorlar, 500 μL deiyonize suda askıda bırakma işlemine tabi tutulmuştur. Optik mikroskop ile yapılan karakterizasyon işlemleri, 3:1 monomer oranı ile hazırlanan her iki nanomotor grubunun, en fazla seviyede tübüler nanoyapılar oluşturduğunu göstermiştir. Kullanılan 3:1 monomer oranı ile sentezlenen yapıların daha homojen olduğu da optik mikroskopta tespit edilmiştir. Deneyler süresince yapılan önemli gözlemlerden birisi ise; KNO_3 ortamında hazırlanan membranın çözünürlüğünde bazı sorunlar olduğudur. Özetle, LiClO_4 dopantı varlığında sürdürülen nanomotor fabrikasyon aşamaları başarı ile tamamlanabilmiş ve literatüre katkı sunabileceği düşünülmüştür. Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH temelli nanomotor gruplarını gösteren (3:1 monomer oranında hazırlanan) optik mikroskop görüntüleri verilmektedir. Düşük derişim varlığında, %2 H_2O_2 , sentezlenen nanomotor yapılar arasında en iyi hareket özellikleri 3:1 monomer oranı ile elde edilen yapılarda olmuştur. Monomer oranı ile yapılan optimizasyon çalışmalarında denenen diğer oranların birçoğu yaklaşık olarak %5-10 H_2O_2 seviyelerinde hareket özelliği kazanabilmiştir. Deneyler süresince gözlemlenen 3:1 monomer oranını kimyasal yakıt varlığında hareket özellikleri kazanan diğer nanomotor çalışmalarına karşı bazı üstünlükler sağlamaktadır [31, 70]. Şekil 4.5, 3:1 monomer oranında sentezlenmiş PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorları gösteren optik mikroskop görüntüsünü paylaşmaktadır. Video 1, düşük derişimdeki hidrojen peroksit varlığıyla hareket eden PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik motorları gösterirken, Video 2 düşük

derişimdeki hidrojen peroksit varlığında hareket eden PPy/PPY-COOH katalitik motorları göstermektedir. Yüksek derişimde kimyasal yakıt varlığında, %30 hidrojen peroksit, PEDOT/PEDOT-COOH temelli motor grubu için elde edilen hareket görüntüleri ise Video 3 ile gösterilmektedir. Deneyler süresince nanomotor yapıların düşük derişimlerdeki kimyasal yakıtların varlığında dahi yaklaşık olarak en az 15 dk boyunca hareket özelliklerini korudukları gözlemlenmiştir. Sayıca az olsa da hareket özelliklerini hareketin başlangıcından 60 dk sonrasına kadar devam ettirebilen nanomotor yapılar optik mikroskop aracılığı ile gözlemlenmiştir. Bu gözlemler sonucunda sentezlenen nanomotor yapıların çalışma sürelerinin uzun olabileceği ve uzun süreli hareketlerin ardından dahi fiziksel yapılarını koruyabildikleri yorumları yapılabilmektedir. Çalışmalar süresince fabrikasyon aşamaları başarı ile tamamlanıp, elde edilen katalitik nanomotorların dairesel ve spiral yörüngelerde hareket özellikleri gösterebildiği de tespit edilmiştir. PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorların ortalama hızları $101,5 \pm 4,2 \mu\text{m/s}$ dolaylarında tespit edilirken; PPy/PPy-COOH temelli nanomotorların ortalama hızları $92,0 \pm 5,4 \mu\text{m/s}$ dolaylarında ölçülmüştür ($n=5$). Bu motorlara kontrollü hareket veren Ni manyetik segmentin kontrolü ise Video 4 ve Video 5'te sırasıyla PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorlar ve PPy/PPy-COOH temelli nanomotorlar için sergilenmektedir.



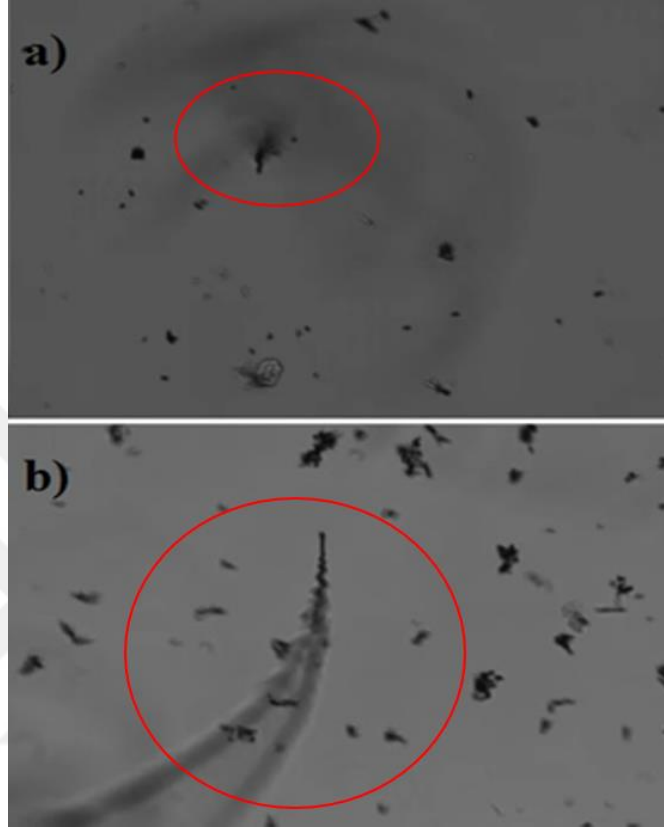
Şekil 4.5. PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorlara ait optik mikroskop görüntüsü (3:1 monomer oranı, dopant: LiClO_4).



Şekil 4.6. PPy/PPy-COOH temelli nanomotorlara ait optik mikroskop görüntüsü (3:1 monomer oranı, dopant: LiClO_4 .)

İnsan vücudundaki sağlıklı hücrelere zarar vermeyecek derecede düşük H_2O_2 derişimlerinde hareket özelliklerine sahip ve dış katmanı fonksiyonel polimerik yapıda olan tübüler yapıda nanomotorların sentezlenmesi tez çalışması süresince temel amaçlardan olmuştur. En dış polimerik katmanda yer alan yapıların oranlarının optimizasyonu bu amaç doğrultusunda çalışılmış, PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH nanomotor gruplarında da 3:1 oranının yapıların sentezlenmesi sonrası membranlardan ayrılması işlemi akabinde en verimli hareket değerlerini kazandırdığı gözlenmiştir. Çalışmalarda karşılaşılan başka bir durum ise membrandan ayrılma aşamalarının önemli bir süreç olduğudur. Şekil 4.7 yıkama işleminin iyi yapılmadığı bir ortamda H_2O_2 kimyasal yakıtı eklenmesi sonrası her iki grup için kazanılan hareket yetilerini göstermektedir. Tübüler şeklindeki yapılar tam olarak ayrılmasa dahi ayrılan motor yapıların başarılı hareket özellikleri gözlemlenebilmektedir. Bu şekilde nanomotorların ilerlemesini sağlayan kabarcık itme mekanizması da oldukça açık şekilde görülmektedir. Hareket özellikleri gösteren tüm nanomotorların incelenmesi sonrası, hareketli nanomotor yapıların birbirlerine çarpmadan, agregasyona uğramadan ve kontrollü bir şekilde düşük derişimlerde hareket etmeyen yapıların arasında, onlarla etkileşime geçmeden ilerleyebildikleri tespit edilmiştir. Deneyler süresince hareket özelliği gösteren yapılara görece daha kısa fakat konik şeklindeki yapıların, %2'lik H_2O_2 derişiminin biraz daha yüksek derişimlere arttırılması sonrası diğer hareketli yapılar gibi hareket özellikleri kazandığı gözlemlenmiştir. Deneysel ortamdaki H_2O_2 derişimi %30'a

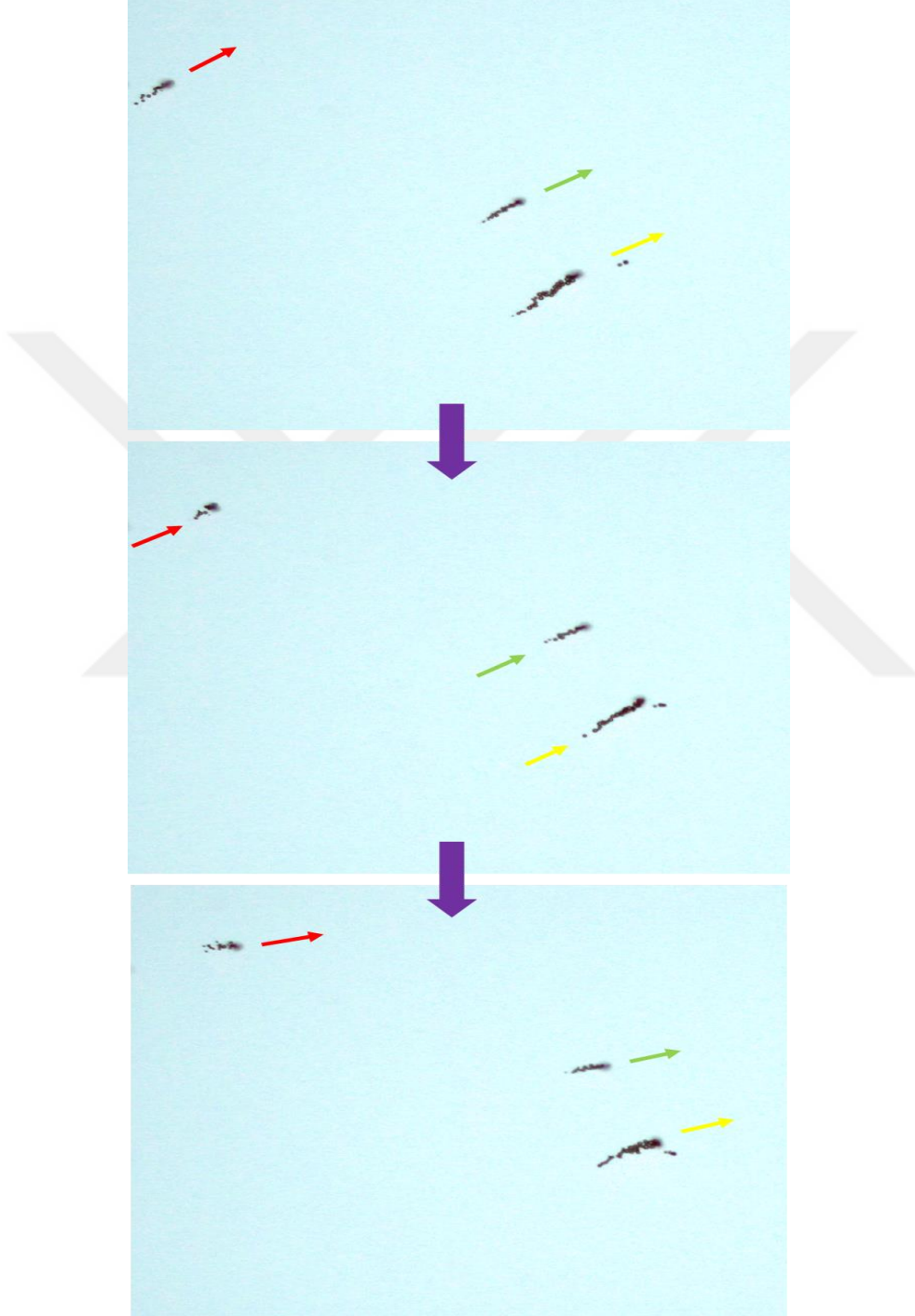
ıkarıldığında ise nanoyapıların tamamının yüksek hızlarda hareket özelliği kazandığı görülmektedir. Bu sebepten ötürü, sentezler süresince oluşturulan homojen ve tübüler nanoyapıların membrandan ayrılma ve yıkama aşamalarının önemi yüksek seviyede olmuştur.



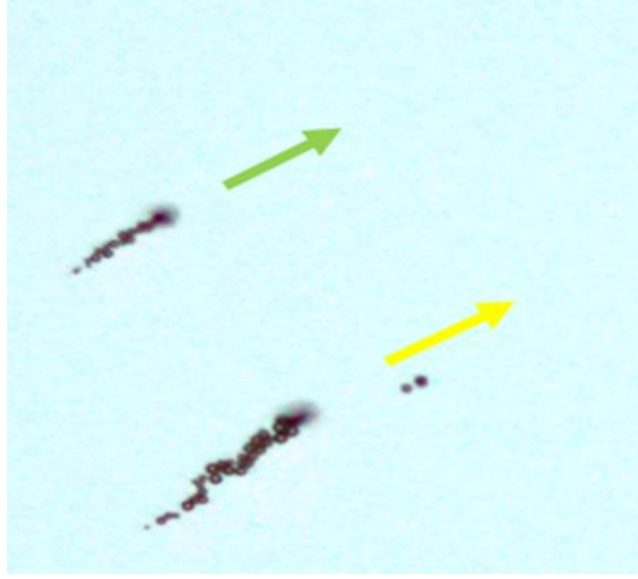
şekil 4.7. a) PEDOT/PEDOT-COOH, b) PPy/PPy-COOH temelli nanomotorlar: iyi yakama yapılmayan ortamda yakıt eklendikten sonraki davranış (3:1 monomer oranı, dopant: LiClO₄).

Sentez aşamalarında membrandan ayrılma ve yıkama süreçleri başarı ile tamamlanmış yapılar için kontrollü ve bir arada gözlemlenebilen hareket özellikleri ayırt edilebilmektedir. şekil 4.8'de PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotor gruplarının; farklı bölgelere hareket aşamalarını, yapıların i katmanındaki Pt'nin ortamdaki kimyasal yakıt olan H₂O₂ varlığında katalitik etki ile bozunumunu ve manyetik kontrolü sağlayan Ni tabakasının harici bir mıknatıs kullanımı ile kontrol altına alındığını mikroskop görüntüleri ile göstermektedir. şekilde gösterilen katalitik nanomotorların aynı yönde ve hızda hareket görüntüleri Video 6'da da gösterilmektedir. şekil 4.9 kabarcık itme mekanizması ile hareket eden nanomotor yapıları göstermektedir. Ayrıca deneyler süresince sentezlenen nanomotor yapıların, kimyasal

yakıt olarak kullanılan H_2O_2 derişimi %0,5-%2 arasında kullanıldığı durumlarda dahi hareket özellikleri gösterebildiği gözlemlenmiştir. Video 7, %0,5 H_2O_2 içeren ortamda PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorların hareketini göstermektedir.

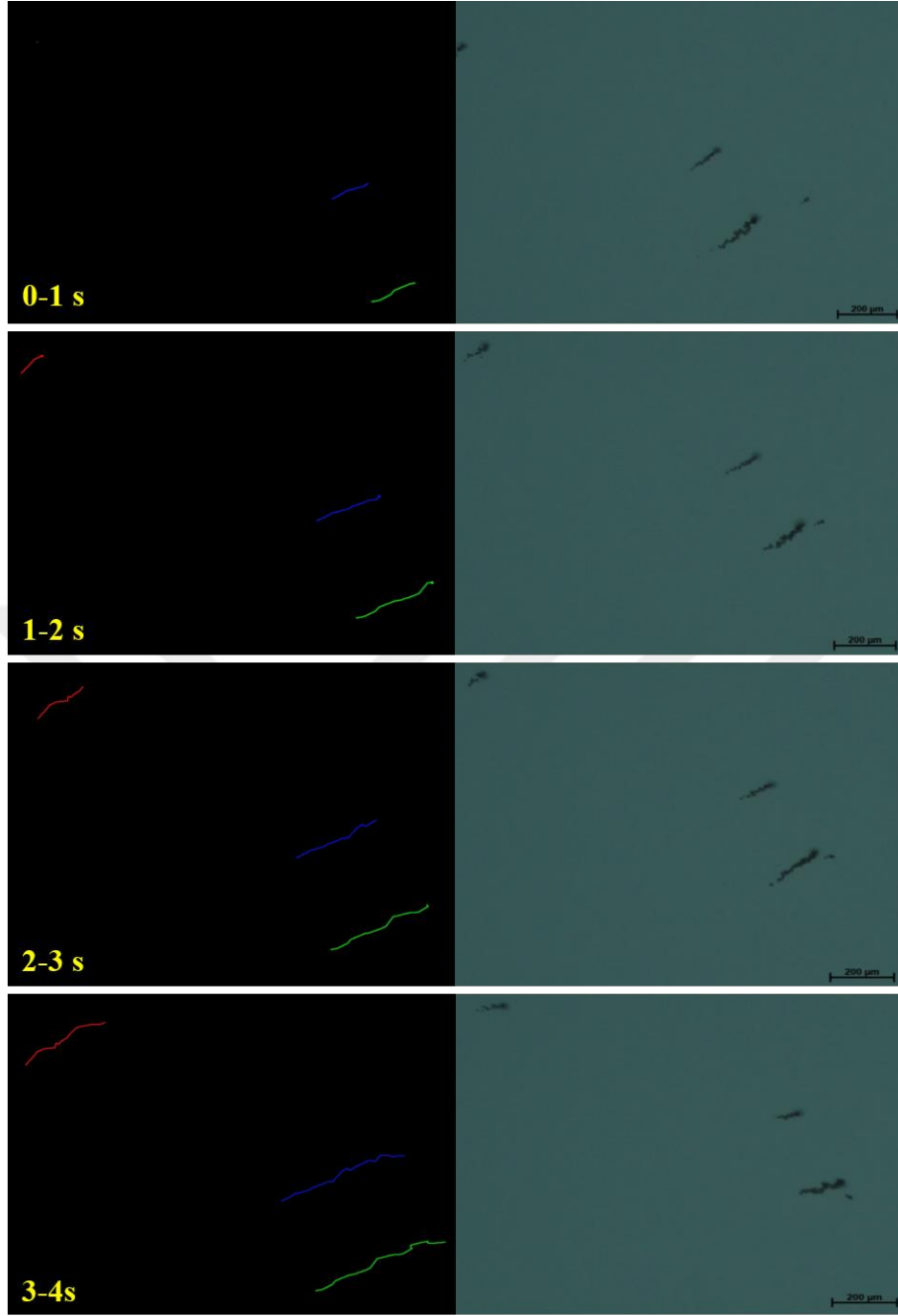


Şekil 4.8. PEDOT/PEDOT-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorlara ait birlikte ve kontrollü hareket.

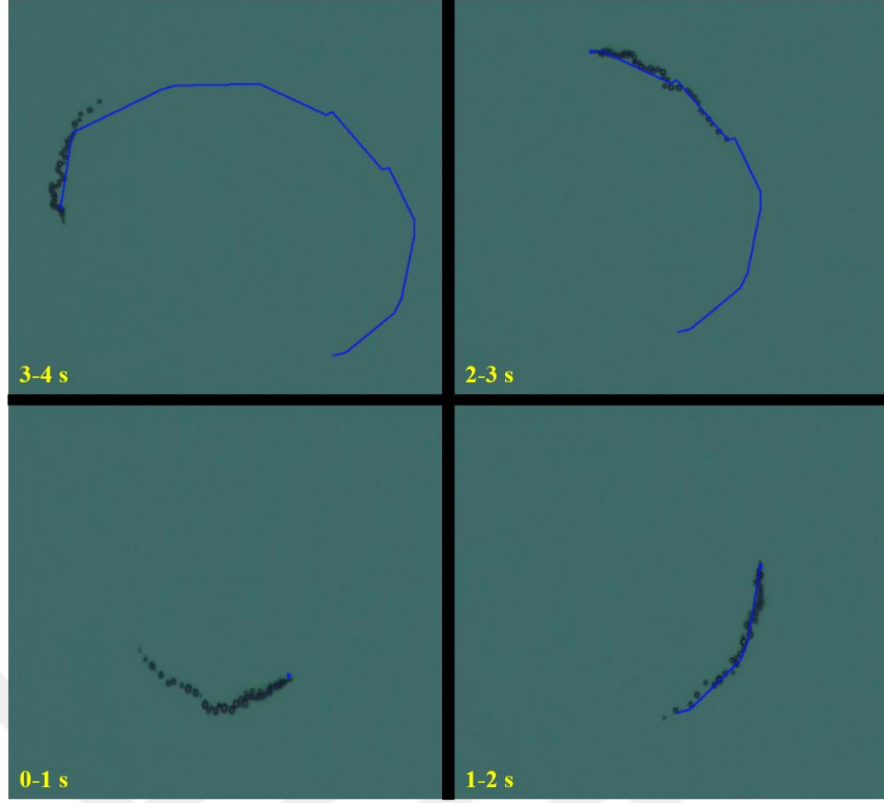


Şekil 4.9. PEDOT/PEDOT-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorlara ait kabarcık itme mekanizmasının optik mikroskop altında görüntülenmesi.

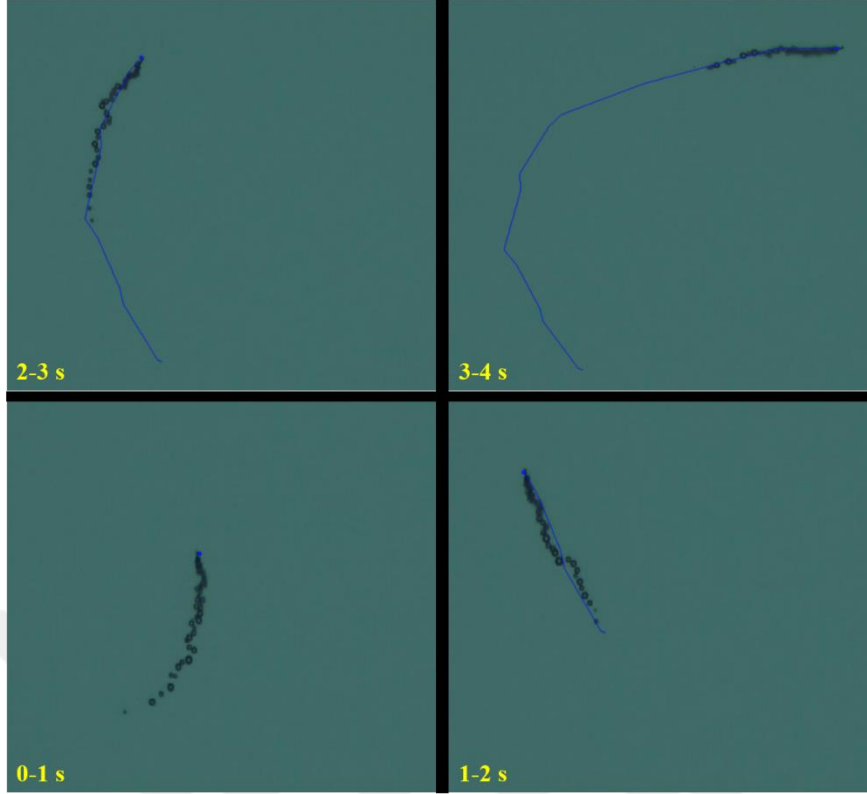
Ayrıca, bu motorlara ait hız ve rotanın takip edildiği video çekiminden belirli zaman aralıklarında alınmış ve izlenmiş (tracking) görüntüler Şekil 4.10’da sunulmaktadır. Bu şekillerde ortama ait boyut skalası da sunulmuştur. Nanomotorların belirli bir rotada düzgün şekilde herhangi bir sapma veya takılma yaşımadan hareket edildikleri görülmüştür. Şekil 4.11’de ise yine PEDOT/PEDOT-COOH temelli bir tübüler katalitik nanomotorun manyetik ortamın yönü değiştirilerek kontrollü olarak yaptığı manevra hareketleri takip edilmiştir. PPy/PPy-COOH temelli bir tübüler katalitik nanomotorun manyetik ortamda konroll  olarak yaptığı manevra hareketlerinin belirli sürelerde takibi ise Şekil 4.12’de gösterilmektedir.



Şekil 4.10. PEDOT/PEDOT-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorların hareketlerinin belirli sürelerde takibi (Ölçüm skalası 200 μm olarak verilmiştir).



Şekil 4.11. PEDOT/PEDOT-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorlara ait hareketin belirli sürelerde takibi (Manyetik alanın yönü değiştirilmektedir).

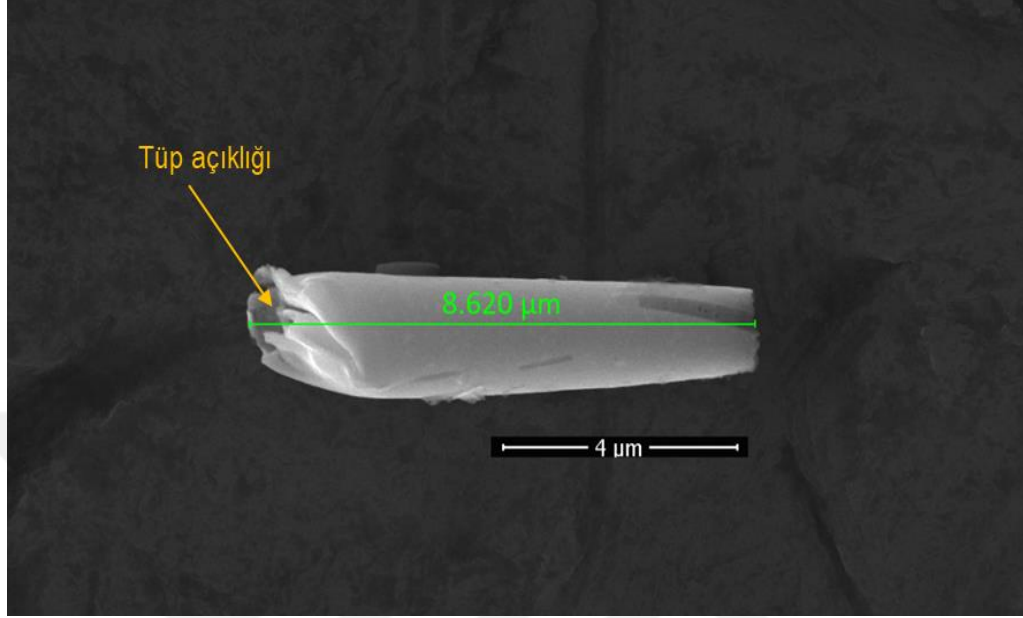


Şekil 4.12. PPy/PPy-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorlara ait hareketin belirli sürelerde takibi (Manyetik alanın yönü değiştirilmektedir).

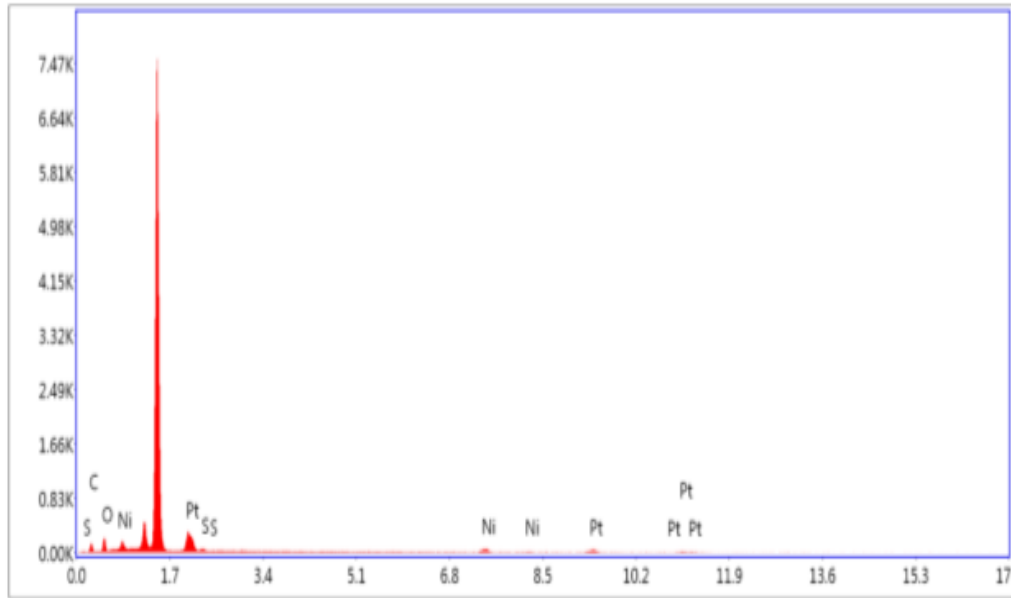
4.2. PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH Temelli Tübüler Katalitik Nanomotorların SEM ve EDX ile Karakterizasyon Çalışmaları

Sentezlenen katalitik nanomotorların karakterizasyon çalışmaları, membran-kalıp tekniği gözetilerek elektrokimyasal yöntemler ile oluşturulmuş ve membranlardan ayrılma aşamalarını tamamlamış en iyi hareket mekanizmasına sahip olan yapıların kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. İncelenen nanomotor yapıların yüzey morfolojik özellikleri, taramalı elektron mikroskobu (SEM) aracılığıyla yapılmıştır. Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX)'in kullanımı ise sentezlenmiş olan nanomotor yapıların elemental kompozisyon analizini tamamlamak için tercih edilmiştir. PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanotübüler yapıdaki motor grubuna ait SEM görüntüleri Şekil 4.13 ile gösterilmiştir. Bu şekil, nanomotor yapının uç kısmında yer alan tüp boşluğunu ve yapıya ait tübüler görüntüyü göstermektedir. İncelenen nanotübüler yapı, yaklaşık olarak 5-10 μm uzunluğunda ve 0.5-1.0 μm ön tüp açıklığına

sahiptir. Şekil 4.14 ile gösterilen EDX analizi ise sentezlenen nanotübüler yapıda biriktirilmiş polimerik ve metalik tabakaların başarı ile oluşturulduğunu göstermektedir.



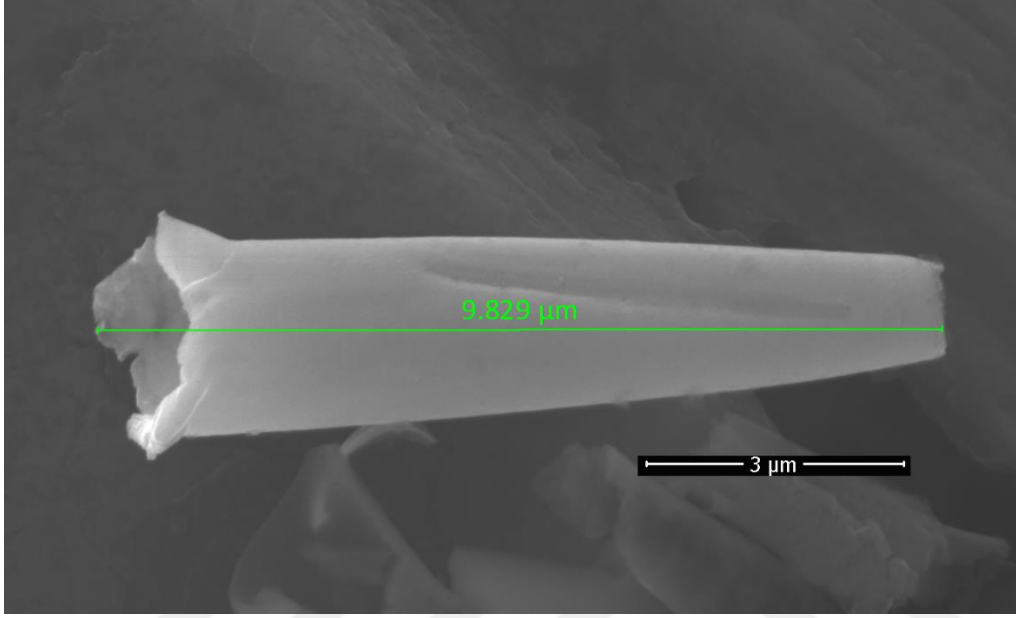
Şekil 4.13. PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik tübüler yapıya ait SEM görüntüsü.



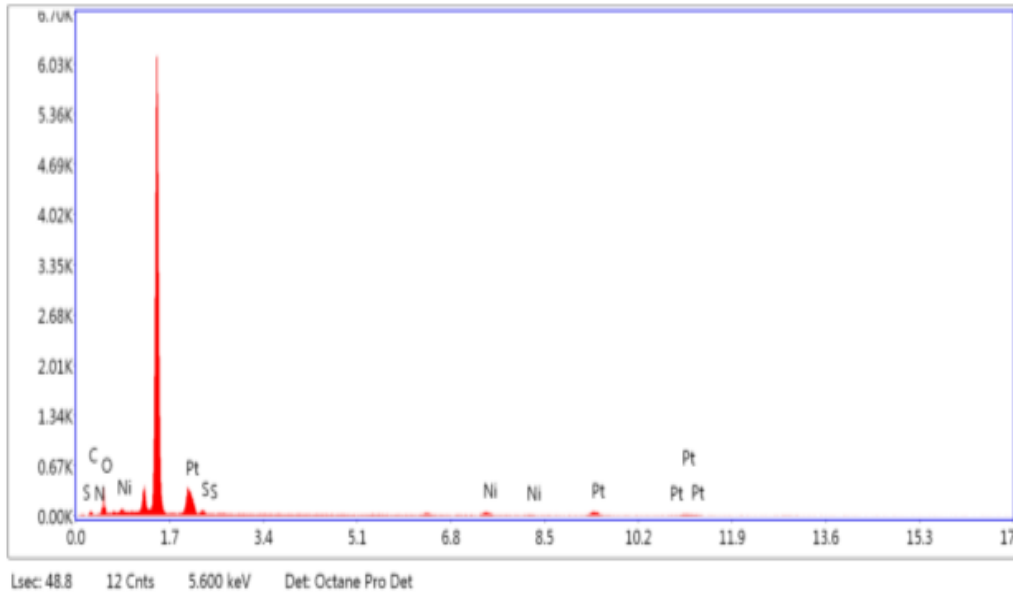
Şekil 4.14. PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik tübüler yapının EDX analizi.

Deneyler süresince sentezlenmiş PPy/PPy-COOH temelli nanotübüler yapıları içeren SEM görüntüleri ve elemental yapı analizini içeren EDX grafiği ise Şekil 4.15 ve 4.16

ile gösterilmiştir. SEM analizi ile incelenen nanotübüler yapının, 5-10 μm uzunluğunda ve 0.5-1.0 μm ön tüp açıklığına sahip olduğu gösterilmiştir. EDX verileri ile yapı üzerinde başarı ile biriktirilmiş polimerik ve metalik tabakaların varlıkları doğrulanmaktadır.



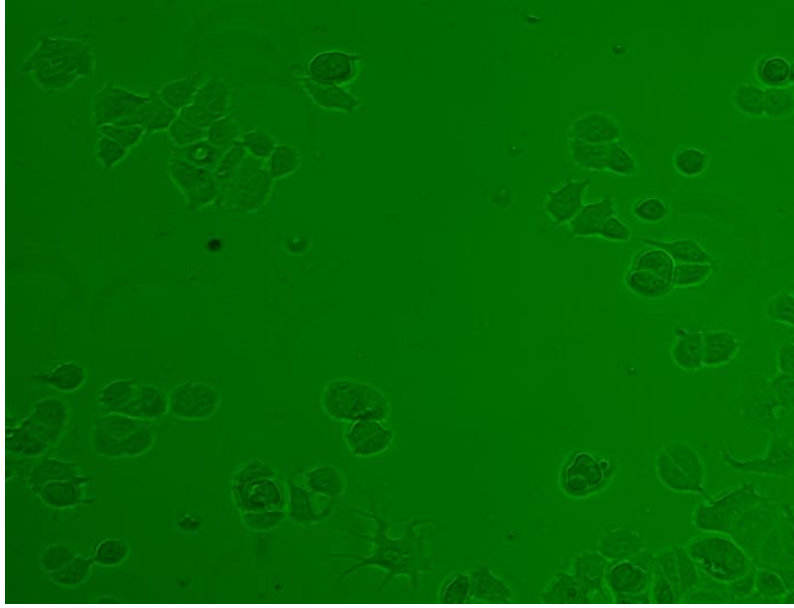
Şekil 4.15. PPY/PPy-COOH temelli katalitik tübüler yapıya ait SEM görüntüsü.



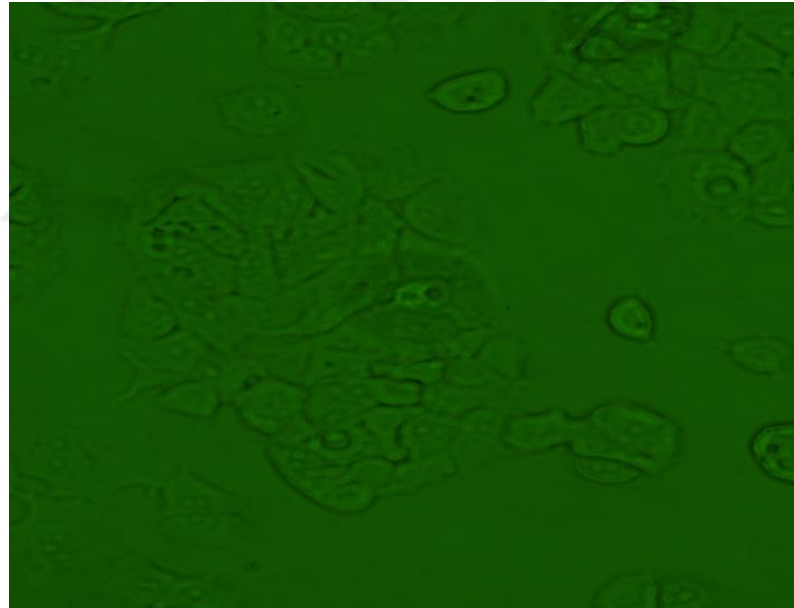
Şekil 4.16. PPY/PPy-COOH temelli katalitik tübüler yapının EDX analizi.

4.3. Kullanılan MCF-7 ve SH-SY5Y Hücrelerinin Kültüre Edilmesi

Deneylerde hedef hücre hattı olarak meme kanseri hücre hattı (MCF-7) kullanılmıştır. İnsan neuroblastoma hücre hattı (SH-SY5Y) ise kontrol deneylerini sürdürmede kullanımı tercih edilmiştir. Hücre kültürüyle optik mikroskopta MCF-7 ve kontrol hücreleri olan SH-SY5Y hattının kontrolü, sentezlenen nanomotorlar ile hücrelerin etkileşimini anlaşılır bir şekilde (uygun filtre ve büyütme ile) gözlemlemek için hücrelerin lameller üzerine ekme işlemi ile yapılmıştır. Hücre ekiminden önce, sterilizasyon için lameller ve kullanılacak olan gereçler otoklavlanmıştır ve ekim süreçlerinde dondurulmuş stoklar kullanılmıştır. Nanomotorların hedef ve kontrol hücreleri olan MCF-7 ve SH-SY5Y 37 °C'de %5 CO₂ ortamının altında %10 fetal sığır serum (FBS), %1 penisilin/streptomisin, 2 mM L-glutamin katkılı Dulbecco's Modified Eagle Besiyeri (DMEM-F12)'de önce T25 flaskında kültüre edilmiştir. Hücre plakaları %80 yoğunluğa ulaştığında hücreler %0,25 tripsin/EDTA yardımı ile kaldırılmış ve 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek çöktürülmüştür. Süpernatant atılmış ve pelet halindeki hücrelere besi yeri eklenmiştir. Hücreler besi yeri içine pipet yardımı ile homojen bir şekilde dağıtılmıştır. Ardından 6 kuyucuklu plakalara yerleştirilen sterilize lameller üzerine her iki ayrı 6 kuyucuklu plaka olmak üzere hedef ve kontrol hücreleri ayrı ayrı ekilmiştir. Tüm çalışmalar steril malzemelerle akış biyokabininde sürdürülmüştür [87]. Ardından, mikroskop görüntülerinin alınması amacıyla MCF-7 ve SH-SY5Y hücreleri mikroskop düzeneğine alınmıştır. Bu işlem süresince hücrelerin ekili olduğu lameller steril 50 mL hacimli santrifüj tüplerine 50 mL DMEM-F12 ile yerleştirilip steril bir şekilde tamamlanmıştır. Transfer işlemi akabinde floresan mikroskop altında hücrelerin ekildiği lameller görüntülenmiş ve hücrelerin sağlıklı durumda oldukları tespit edilmiştir. Sağlıklı MCF-7 hücrelerine ait görüntüler iki farklı lamel için Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de gösterilmektedir.



Şekil 4.17. Lamel 1’deki MCF-7 hücrelerinin mikroskop görüntüsü.



Şekil 4.18. Lamel 2’deki MCF-7 hücrelerinin mikroskop görüntüsü.

4.4. Nanomotorlara EDS/NHS Modifikasyonu ve AntiHER2 Antikorumun İmmobilizasyonu

Optimizasyon işlemleri tamamlanmış koşullarda sentezlenen ve karakterize edilen PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH katalitik nanomotorlar, MCF-7 meme hücre hattı ile spesifik olarak etkileşim ve bu kanser hücre hattını tanıma aşamalarında kullanılmıştır. PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH temelli nanotübüler

şekildeki katalitik nanomotorlar, MCF-7 hücre hattı ile etkileştirilmek üzere meme kanseri tanısında sıklıkla tercih edilen antikorlardan olan antiHER2 ile immobilize edilmiştir [89-91]. İmmobilizasyon aşamalarına ait optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu işlemin haricinde, kontrol çalışmaları da sürdürülerek antiHER2 yüklü nanomotorların başarılı seçicilik özellikleri sunulmuştur. Kontrol deneylerini sürdürebilmek amacıyla meme kanserine özgün olmayan bir antikor olan anti insan albümin antikorunun PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH temelli nanotübüler yapılara immobilize edilmesi tercih edilmiştir. Yine bir diğer önemli bir kontrol deneyi ise MCF-7 hücre hattının tercih edilmediği bir başka hücre hattının kullanılmasıdır. Bu sebeple, antiHER2 immobilize edilmiş PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH nanomotorların, kontrol hücre grubu olarak kullanılan SH-SY5Y hücreleri ile etkileşime girmediği gösterilmiştir. PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH nanomotor gruplarının hareketi düşük derişimlerde H_2O_2 ile ve hedef hücrelere yönlendirilmesi ise yapıda bulunan manyetik nikel segmenti aracılığıyla bir mıknatıs kullanımı ile sağlanmıştır. Polimerik dış yapıdaki fonksiyonel grupların etkinliğini arttırmak için yüzeyler 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodimit/N-hidroksisüksinimit (EDC/NHS) ile etkileşime bırakılmış ve nanomotorların özgün hücre hattı ile etkileşimi incelenmiştir. Ek olarak, deneyler süresince EDC/NHS ile muamele edilmeyen nanomotorlar da antiHER2 antikoruna ile inkübe edilmiştir.

1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodimit/N-hidroksisüksinimit (EDC/NHS) ile yapılan işlemler

Literatür çalışmalarında antikor etkileşimi için karboksilik asit temelli grupların aktif hale getirildiği nanomotor çalışmaları bulunmaktadır [66, 69]. Bu doğrultuda, optimum koşullarda elde edilen nanomotor yapılar çöktürülmüş ve hazırlanan EDC (10 mM) ve NHS (20 mM) karışımıyla 15 ve 30'ar dk inkübe edilmiştir. Akabinde yıkanmış ve hız takibi süreçleri gerçekleştirilmiştir. 30 dk süreli inkübasyondan sonra her iki polimerik nanoyapı grubunda düşük konsantrasyonda olan yakıtta hareket gözlenmemiştir. Fakat bu nanomotor yapıların yaklaşık olarak %10 seviyesinde hidrojen peroksit varlığında hareket ettiği gözlemlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.1 ve 4.2'de gösterilmektedir. Fabrikasyon ve inkübasyon süreçlerinin tekrarlanabilir olduğunu ispat etmek amacıyla bağıl standart sapma (%RSD) değerleri de hesaplanmıştır. Video 8 ve 9'da 15 dk'lık inkübasyon işlemi sonrası PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH katalitik

nanomotorlara ait hareket videoları gösterilmektedir. Videolar ile, nanomotor yüzeylerinin aktif hale getirildikten sonra da düzgün ve belirli bir hıza sahip olacak şekilde başarıyla hareket ettikleri tespit edilmiştir ve bu hızların literatür ile kıyaslanabilir seviyede iyileşmede olduğu görülmektedir [66, 67, 69]. Ek olarak belirtmek gerekirse; başlangıç aşamasında sentezlenen nanomotorların hızları ve hareket mekanizmaları da literatürle kıyaslanabilir seviyede gözlemlenmektedir [46, 67].

Tablo 4.1. PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlara ait veriler (EDC/NHS inkübasyonu) (n=5)

EDC/NHS inkübasyon süresi (dk)	Nanomotor hızı ($\mu\text{m/s}$)	Standart sapma (s)	Bağıl standart sapma (%RSD)
0	101,5	4,2	4,1
15	65,5	3,8	5,8
30	0,0	-	-

Tablo 4.2. PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorlara ait veriler (EDC/NHS inkübasyonu) (n=5)

EDC/NHS inkübasyon süresi (dk)	Nanomotor hızı ($\mu\text{m/s}$)	Standart sapma (s)	Bağıl standart sapma (%RSD)
0	92,0	5,4	5,8
15	61,5	4,4	7,1
30	0,0	-	-

AntiHER2 ile yapılan işlemler

PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotor yüzeylerine meme kanseri tedavisinde yüksek seçiciliğe sahip antiHER2 antikoru immobilizasyonu yapılarak deneysel çalışmalar sürdürülmüştür [92-94]. Bu amaçla antiHER2, pH 7,4 fosfat tamponunda 5 $\mu\text{g/mL}$ olacak şekilde hazırlanmıştır [66, 85]. Akabinde ise 30 ve 60 dk süreler boyunca antiHER2 antikoru ile polimerik nanomotorların inkübasyonu yapılmıştır. Bu işlemin akabinde sığır serum albümin (BSA) içeren tampon ortamında

sentezlenen nanomotorlar yıkanmıştır. Bu işlemi takiben nanomotorların hızları takip edilmiştir. EDC/NHS ile muamele edilmemiş nanomotorlara ait veriler Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Antikor muamelesinden sonra nanomotor hızlarında azalmalar gözlemlenmiştir [66, 69]. 15 dk süre ile EDC/NHS ile muamele edilen ve devamında 30 dk 5 µg/mL antiHER2 ile immobilize edilen PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorların ortalama hızları ise; 42,5 µm/s ve ayrıca PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorların ortalama hızları da 38,0 µm/s olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.3. PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlara ait veriler (AntiHER2 ile inkübasyon işlemi yapılmıştır.) (n=5)

AntiHER2 inkübasyon süresi (dk)	Nanomotor hızı (µm/s)	Standart sapma (s)	Bağıl standart sapma (%RSD)
0	101,5	4,2	4,1
30	80,5	5,2	6,4
60	50,0	3,6	7,2

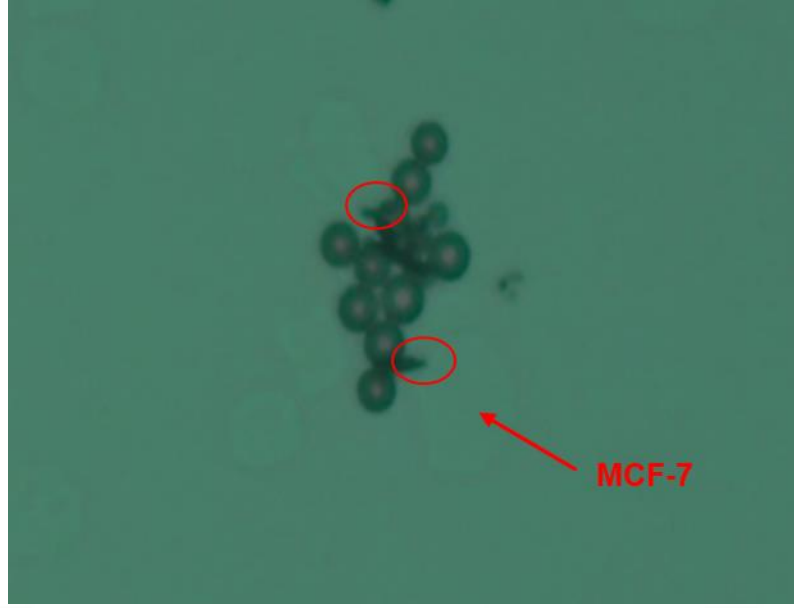
Tablo 4.4. PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorlara ait veriler (AntiHER2 ile inkübasyon işlemi yapılmıştır.) (n=5)

AntiHER2 inkübasyon süresi (dk)	Nanomotor hızı (µm/s)	Standart sapma (s)	Bağıl standart sapma (%RSD)
0	92,0	5,4	5,8
30	68,0	4,8	7,1
60	40,5	3,4	8,3

Kontrol deneyleri süresince kullanılmış olan ve meme kanserine özgün olmayan bir antikor olan anti insan albümin antikorunun PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH temelli nanotübüler motorlara immobilizasyonu çalışmalarında, anti insan albumin antikoru pH 7,4 tamponunda 5 µg/mL olacak şekilde hazırlanmıştır [66, 85]. Akabinde, 30 ve 60 dk sürelerde antikor ile polimerik nanomotorların inkübasyonu

yapılmıştır. Ardından sığır serum albümin (BSA) içeren tampon ile nanomotorlar yıkanmıştır. Bu işlemin devamında nanomotorların hızları kontrol edilmiştir. Antikor ile muameleden sonra nanomotor hızlarında azalma tespit edilmiştir [66, 69].

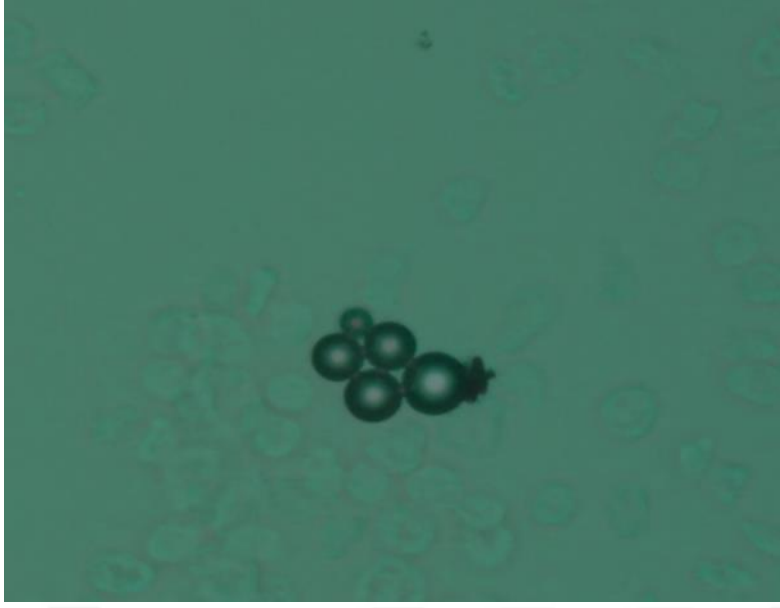
AntiHER2 antikor ile immobilizasyonları yapılmış nanomotorların MCF-7 hedef hücre hattını tanıma çalışmalarının optik mikroskop görüntüleri de deneyler süresince alınmıştır. Deney aşamalarında her iki PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH nanomotor grupları için 30 dk süreyle antiHER2 immobilizasyonu; hem EDS/NHS ile aktivasyon işlemi gören hem de görmeyen nanomotorlar için ele alınmıştır. Bilinmektedir ki hücre besiyeri ortam yoğunluğu fazla olduğundan dolayı, hücre ortamında sentezlenmiş olan nanomotorların hız seviyeleri kısmen düşmektedir. Şekil 4.19 ve Şekil 4.20’de sırası ile PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotora ait görseller gösterilmektedir. Bu görseller, antikor ile immobilize edilmiş nanomotorların MCF-7 hücre hattının bulunduğu ortama eklenmesi ve H_2O_2 kimyasal yakıtı eklenerek MCF-7 meme hücre hattına bir mıknatıs varlığında kontrollü olarak sürülmesi ile elde edilmiştir. Özellikle, EDC/NHS ile aktivasyonu yapılarak antikor yüklenmiş nanomotorlar, hücre besiyeri ve hücre hattının olduğu ortamda 5 ila 10 dk süreler içerisinde hedef kanser hücreleri ile meme kanserinin en çok bilinen belirteçlerinden biri olan insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2-pozitif) sayesinde seçici olarak etkileşime geçebilmiştir [85, 90]. Nanomotor yapıların görselleri paylaşılırken, nanomotorların hareket halinde olduğunu da vurgulamak ve kanıtlamak amacı ile yakıtın bitmekte olduğu ve aynı zamanda kabarcık mekanizmasının devam ettiği etkileşim karelerinin gösterilmesine dikkat edilmiştir. Hücrenin bulunduğu ortama yeni yakıt, hidrojen peroksit, eklemesi ile dahi hücre ile seçici olarak etkileşim halinde olan nanomotorlar hücreleri bırakmamıştır. AntiHER2 immobilize edilmiş PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorların MCF-7 hücreleri ile etkileşimleri Video 10-12’de paylaşılmıştır. Şekil 4.21’de PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotor grupların görüntüsü gösterilmiştir. EDS/NHS ile aktivasyon işlemine tabi tutulan antiHER2 yüklü nanomotor MCF-7 hücrelerini rahatlıkla tanımıştır ve seçici olarak etkileşime girmiştir. Kendiliğinden fonksiyonel polimerik katmanların bu anlamda kullanım potansiyeli olduğu gösterilmiştir.



Şekil 4.19. EDS/NHS ile aktive edilmiş antiHER2 yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorların MCF-7 hücre hattı ile etkileşimi.

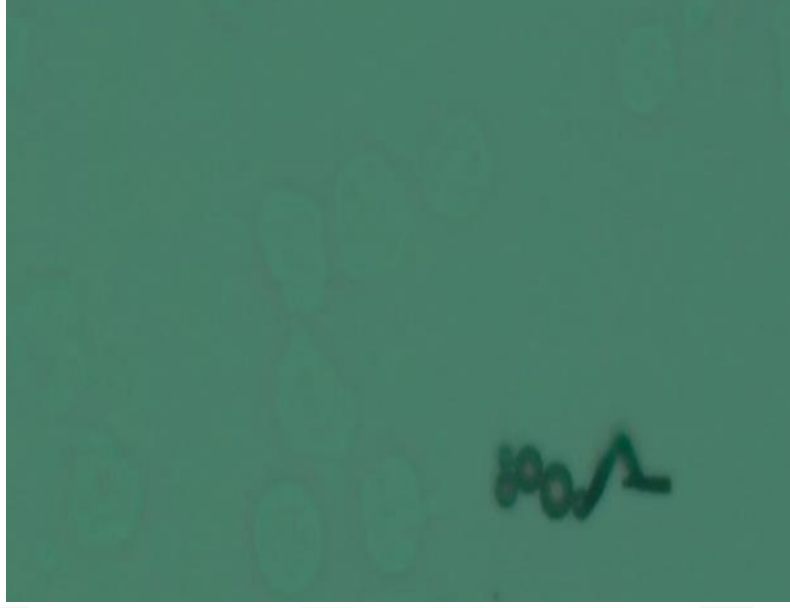


Şekil 4.20. AntiHER2 yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorun MCF-7 hücre hattı ile etkileşimi.

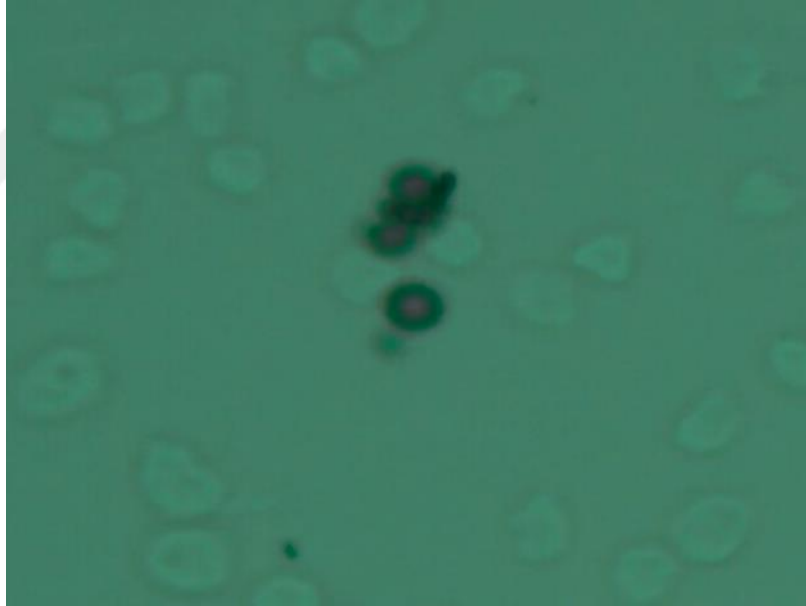


Şekil 4.21. EDS/NHS ile aktive edilmiş antiHER2 yüklü PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorların MCF-7 hücre hattı ile etkileşimi.

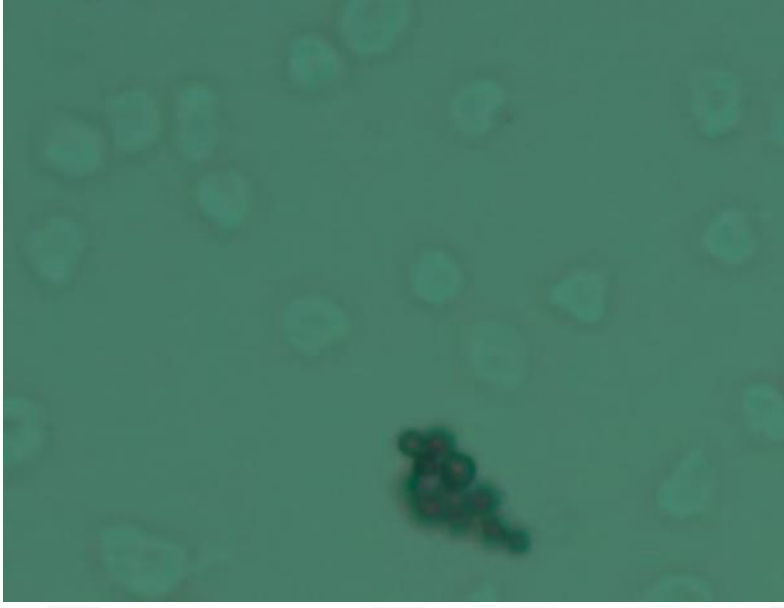
Kontrol deneyleri aşamalarının görselleri aşağıda sunulmaktadır. Şekil 4.22’de anti insan albümin antikoru ile immobilize edilmiş olan PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotor gruplara ait görüntü paylaşılmıştır. Anti insan albumin antikoru ile immobilizasyonu yapılmış olan bu nanomotorlar, hareket halindeyken MCF-7 hücreleri ile etkileşmemiştir. Bir süre sonra üçü birleşmiş ve tek taraflı kabarcık mekanizması ile hareketleri sonlanmıştır. Bir başka etkileşim özellikleri göstermeyen nanomatora ait görsel ise Şekil 4.23’ te paylaşılmıştır. Görüntüde, hareket halindeki nanomotor hücrelerin arasından -hatta çok yakınından- geçmekte olup herhangi bir seçici etkileşim göstermemektedir. Video 13, nanomotor ve hücre arasında herhangi bir etkileşimin olmadığını açıkça göstermektedir. Şekil 4.24 ise anti insan albümin antikorunun immobilize edildiği PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorlar gruplarına ait görselleri içermektedir. Anti insan albumin antikoru ile immobilize edilmiş olan bu nanomotor hareket halindeyken MCF-7 hücreleri ile hiçbir şekilde etkileşmemiş ve kabarcık itme mekanizması ile hareketine devam etmiştir.



Şekil 4.22. Anti insan albumin antikoru yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlar ve MCF-7 hücreleri.

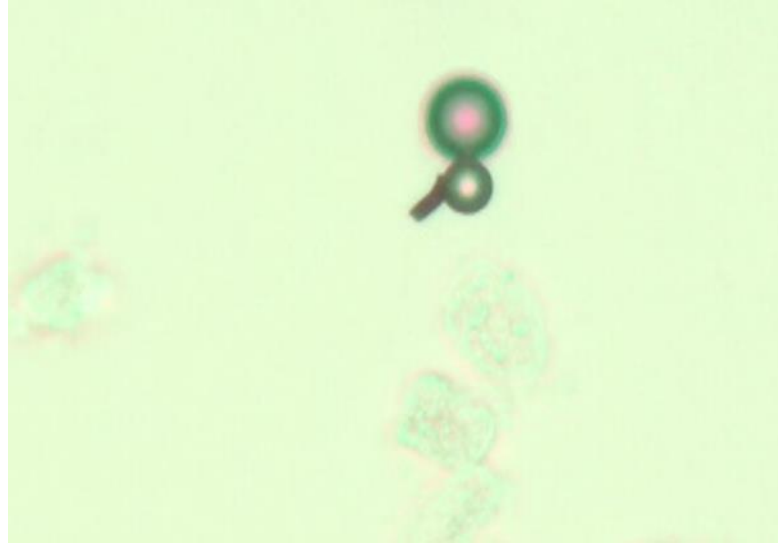


Şekil 4.23. MCF-7 hücreleri ile aynı ortamda bulunan ve hücrelerin arasından geçen anti insan albumin antikoru yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotora ait optik mikroskop görüntüsü.



Şekil 4.24. Anti insan albumin antikoru yüklü PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotor ve MCF-7 hücreleri.

Farklı bir kontrol deneyi ise, antiHER2 antikoru ile immobilize edilmiş nanomotorlar ve kontrol hücre grubu olarak kullanılan SH-SY5Y hücreleri ile yapılmıştır. Bu aşamada herhangi bir etkileşim gözlenmemiştir. Şekil 4.25 bu kontrol aşaması süresince elde edilmiş bir optik mikroskop görüntüsüdür. Etkileşime girmeden durma seviyesine gelmiş olan PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomatora ait veri, Video 14 ile paylaşılmıştır. Yapılmış olan deneyler ve sonuçları; sentezlenen, karakterize edilen polimerik tübüler nanomotor yapıların antiHER2 ile immobilize edilerek MCF-7 hücrelerini seçici bir şekilde HER2-pozitif tanıma kapasitesine bağlı olarak tanıdığını göstermektedir [85, 90].

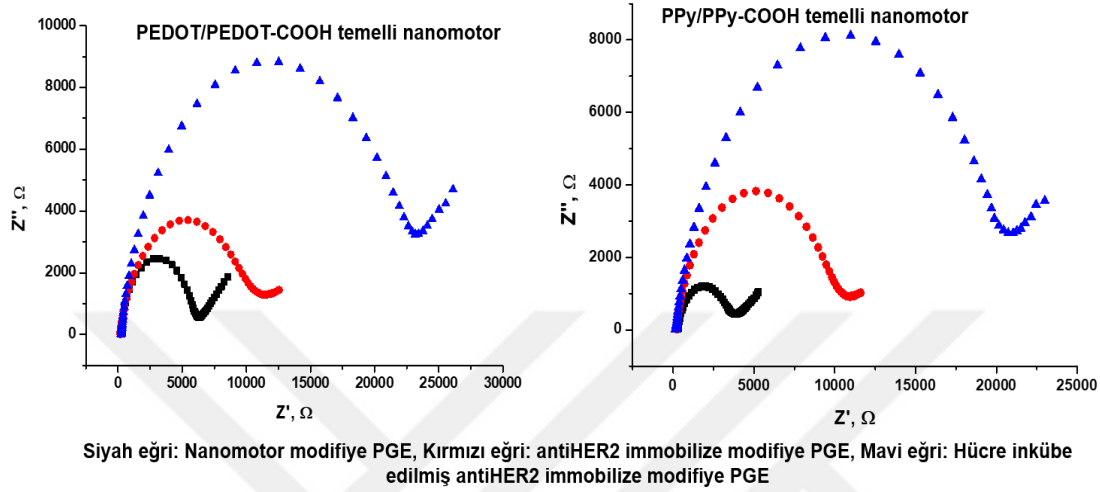


Şekil 4.25. SH-SY5Y hücreleri ile aynı ortamda bulunan antiHER2 yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotora ait optik mikroskop görüntüsü.

4.5. Elektrokimyasal Karakterizasyon ve Etkileşim Çalışmaları

Tez çalışmalarının bu kısmında, sentezlenen nanomotorların kalem grafit elektroda modifikasyonu yapılarak karakterizasyon ve etkileşim çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu aşamalarda, ilk önce destile suda askıda bırakılmış olan PEDOT/PEDOT-COOH nanomotorlar ve PPy/PPy-COOH nanomotorlar 6000 rpm’de 5 dk boyunca çöktürülmüştür. Destile su uzaklaştırıldıktan sonra etanolde disperse edilmiştir. Ardından vortekslenen ortama 10 dk boyunca kalem grafit elektrotlar (PGE’ler) daldırılmıştır. Modifikasyon öncesi kalem grafit elektrotlar da etanolle yıkanıp kurutularak kullanılmıştır. Nanomotor modifiye elektrotlar devamında 10 mM EDC ve 20 mM NHS karışımına daldırılarak 15 dk inkübe edilmiştir. Ardından 30 dk 5 µg/mL antiHER2 antikorı ile muamale edilmiştir. Son olarak modifiye elektrotlar MCF-7 hücreleri ile 1 saat inkübe edilerek elektrokimyasal empedans spektroskopisi ile karakterizasyon ve etkileşim çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kullanılan derişimi ise 10.000 hücredir. EIS ölçümleri +0.2 V’ta ve 0.1-10⁵ Hz frekans aralığında 0.1 M KCl + 5 mM Fe(CN)₆^{3-/4-} çözeltisinde yapılmıştır. Şekil 4.26’da nanomotor modifiye PGE, antiHER2 immobilize nanomotor modifiye PGE ve 10.000 derişimindeki MCF-7 hücre ortamı ile muamele edilen antiHER2 immobilize nanomotor modifiye PGE’a ait empedans spektrumları gösterilmektedir. Şekil incelendiğinde yük transfer dirençlerinin (R_{ct} ’lerinin) biyomolekül immobilizasyonlarından sonra arttığı görülmektedir. Bu

antiHER2 immobilizasyonunun ve devamında daha da artan yük transfer dirençlerinde antikor ile etkileşen meme kanseri hücre hatlarının modifiye elektrotlardaki inkübasyonunu işaret etmektedir. Bu sonuçların MCF-7 hücreleri ile yapılan literatür çalışmaları ile de uyum içerisinde olduğu belirlenmiştir [95, 96].



Şekil 4.26. Nanomotor modifiye elektrotlar ile gerçekleştirilen EIS temelli karakterizasyon ve MCF-7 meme kanseri hücre hattı etkileşim çalışmaları (n=3).

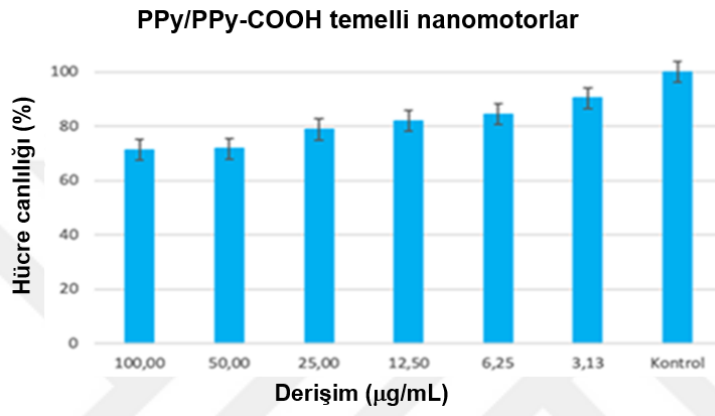
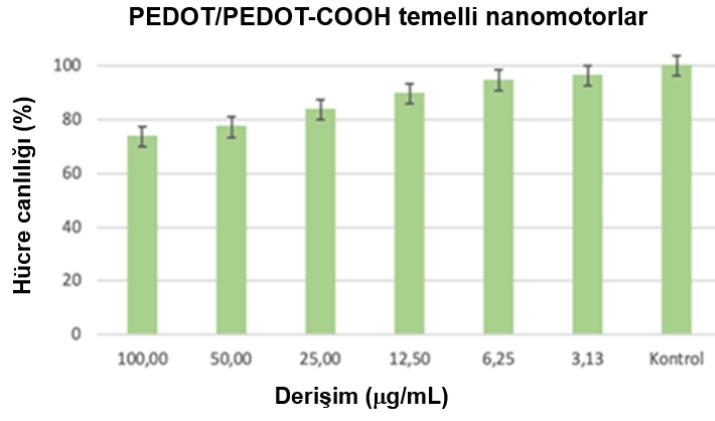
4.6. Tetrazolyum Testi (MTT) Kullanılarak Meme Kanseri Hücre Hattı İle Etkileşen Nanomotorların Sitotoksikite Çalışmaları

Son olarak PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorlar için 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) testleri ile kanserli hücre ile etkileşen nanomotorların sitotoksikite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada hücre kültürü çalışmaları önceki aşamalarda anlatılan MCF-7 hücre hattı kullanılmıştır. Amaç; sentezlenen nanomotor yapıların hücre canlılığı üzerindeki etkilerinin tespitidir, diğer bir deyişle MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksikite etkisinin nicel olarak ölçülmesidir. Analiz şu şekilde gerçekleştirilmiştir: Ekilme işleminden sonra tutunması için hücreler 24 saat inkübatörde bekletilmiştir. Tablo 4.5’de verilen derişimlerde olacak şekilde kuyucuklara nanomotorlar eklenip, 24 saat hücrelerle inkübe edilmiştir. Sonrasında MTT analizine geçilmiştir. Bu aşamada bütün deneysel süreç karanlık ortamda gerçekleştirilmiştir. Analiz için kuyucuklardan besi yerleri pipetör ile çekilmiş ve %10’luk MTT çözeltisi kuyucuklara ilave edilmiştir. 37°C’de 4

saat inkübasyonu takiben kuyucuklardaki çözelti aspire edilmiştir. Devamında kuyucuklara 100 µL DMSO eklenip yatay karıştırıcıda 5 dk karıştırılmıştır. Absorbans değerleri mikroparka okuyucu kullanılarak okunmuştur. Şekil 4.27’de sunulan bu sonuçlara göre 2 grup nanomotorların tüm konsantrasyonlarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %70’in üzerinde canlılık gözlemlenmektedir. MTT analizi sonuçlarına göre, hücre canlılığını olumsuz şekilde etkileyecek bir sonuca rastlanmamış olup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toksik bir etki tespit edilmemiştir. Bu durum literatür ile de uyumlu olup sentezlenen motorların kanser tanı süreçlerinde potansiyel alternatif bir teknoloji olabileceğini işaret etmektedir [97-99].

Tablo 4.5. MTT analizi yapılan nanomotorlara ait derişimler.

PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlar (µg/mL)	PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorlar (µg/mL)
100,00	100,00
50,00	50,00
25,00	25,00
12,5	12,5
6,25	6,25
3,13	3,13
0 (kontrol)	0 (kontrol)



Şekil 4.27. Polimerik nanomotorların MTT analizi.

5. YORUM

Farklı nanomotor yapıların sentezi, hareket mekanizmalarının incelenmesi ve uygulamaları ilgi çekici araştırma alanlarından biri olup, hareket mekanizmasına sahip nano ölçekteki yapıların hazırlanması ve çeşitli amaçlar için kullanımı özgünlüğü yüksek çalışmalardır. Kanser çağımızın en tehlikeli hastalıklarından biri olmaya devam etmektedir. Çoğu türünde henüz tedavisi tam olarak bulunamamış olan bu hastalığın erken tanısı oldukça önem arz etmektedir. Meme kanseri, kanser türleri arasında akciğer kanserinden sonra en çok görülen kanser türü olup özellikle kadınlarda yüksek oranda görülmektedir. Bu hastalığın zararlarından korunmanın en önemli yolu ise erken teşhistir. Günümüzde kanser tanısında, görüntüleme teknikleri, kan testleri ve doku biyopsisi gibi yöntemler uygulanmaktadır. Bu bağlamda, yüksek lisans tezine de konu olan nanomotorlar, hızlı, pratik ve güvenilir sonuçlara sebebiyet verme potansiyeli ele alındığında klasik teşhis yöntemlerine göre üstünlükler sağlayabilir. Bu tez çalışmasında polimerik nanomotorların sentezi ve hazırlanan yapıların antikor immobilizasyonundan sonra meme kanserinin teşhisine yönelik olarak kullanım potansiyelinin araştırılması adına çalışmalar yapılmıştır. Herhangi bir fonksiyonelleştirme basamağına gerek kalmama, pratik ve hızlı tanıma platformu hazırlama, çok küçük hacim ve miktarlarda yüksek hassasiyetle çalışılabilme ve ekonomik oluş gibi avantajlar hem literatüre hem de teknoloji üretimi anlamında biyomedikal sektöre katkının yüksek olacağını işaret etmektedir. Ayrıca, tez çıktılarının devamında farklı projelerin yazılmasına ön ayak olacağı düşünülmektedir. Tez kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda madde madde paylaşılmaktadır:

- Tez çalışmalarında meme kanseri hücre hattını tanıma kapasitesine sahip ve seçici özellikte 2 nanomotor sentezlenmiştir: PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH temelli tübüler katalitik nanomotorlar.
- Nanomotorlara ait morfolojik (tübüler yapı) ve yapısal (elementel dağılım) karakterizasyonlar SEM ve EDX ile gerçekleştirilmiştir.
- %2 derişimindeki H_2O_2 yakıt varlığında düzgün, kararlı ve tekrarlanabilir hareket her 2 grup nanomotor için de sağlanabilmektedir. PEDOT/PEDOT-COOH nanomotorlara ait hızlar ortalama $101,5 \pm 4,2 \mu\text{m/s}$ civarında iken, PPy/PPy-COOH motorlara ait ortalama hız $92,0 \pm 5,4 \mu\text{m/s}$ civarındadır.

- PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorların, PPy/PPy-COOH temelli nanomotorlara göre daha iyi hareket ettiği görülmüştür. Daha düşük yakıt derişiminde (%0,5 civarı) de hareket ettiği tespit edilmiştir.
- Yüksek yakıt derişimlerinde hareket mekanizmaları literatürle yarışır niteliktedir [66, 67, 100, 101].
- Farklı rotalarda rahatlıkla hareket eden motorlar yapılarını herhangi bir bozulmaya uğramadan korumuşlardır.
- Ni segment sayesinde kontrollü hareket bir mıknatıs yardımı ile sağlanmıştır.
- Her 2 nanomotor grubunun yaşam sürelerinin düşük derişimdeki yakıt varlığında bile uzun olduğu tespit edilmiştir. 1 saat boyunca hareket eden motorların varlığı tespit edilmiştir. PEDOT/PEDOT-COOH temelli tübüler katalitik motorlarda bu oran daha fazladır.
- AntiHER2 antikoru yüklü PEDOT/PEDOT-COOH ve PPy/PPy-COOH temelli katalitik tübüler nanomotorlar seçici bir şekilde MCF-7 hücreleri ile etkileşmiştir. Anti insan albümin antikoru immobilize nanomotorlar ise MCF-7 hücre hattı ile uzun süre aynı ortama maruz bırakılsa bile etkileşmemiştir. SH-SY5Y hücreleri ile yapılan kontrol deneylerinde de etkileşim görülmemiştir. Bu çalışmalarda, hız takibi ve hareket kontrolü PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorlarda daha rahat bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmaları sonucunda elde edilen bulgular elde edilen motorların meme kanseri hücre hattını tanımada kullanım potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, literatüre ve klinik uygulamalara faydalar sağlanabileceği öngörülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- [1] M.A. Ratner, D. Ratner, Nanotechnology: A Gentle Introduction To The Next Big Idea, Prentice Hall Professional 2003.
- [2] W. Wang, W. Duan, S. Ahmed, T.E. Mallouk, A. Sen, Small Power: Autonomous Nano-And Micromotors Propelled By Self-Generated Gradients, Nano Today, 8 (2013) 531-554.
- [3] J. Wang, Nanomachines: Fundamentals and Applications, John Wiley & Sons 2013.
- [4] H.K. Kaya, T. Çağlayan, F. Kuralay, Functionalized Nanomaterial-Based Electrochemical Sensors for Point-Of-Care Devices, Functionalized Nanomaterial-Based Electrochemical Sensors, Elsevier 2022, pp. 309-335.
- [5] R. Coontz, P. Szuromi, Issues in Nanotechnology, Science, 290 (2000) 1523-1545.
- [6] G.A. Ozin, I. Manners, S. Fournier- Bidoz, A. Arsenault, Dream nanomachines, Advanced Materials, 17 (2005) 3011-3018.
- [7] A.P. Davis, Synthetic Molecular Motors, Nature, 401 (1999) 120-121.
- [8] W.F. Paxton, A. Sen, T.E. Mallouk, Motility of Catalytic Nanoparticles Through Self Generated Forces, Chemistry–A European Journal, 11 (2005) 6462-6470.
- [9] W.F. Paxton, S. Sundararajan, T.E. Mallouk, A. Sen, Chemical Locomotion, Angewandte Chemie International Edition, 45 (2006) 5420-5429.
- [10] T. Mirkovic, N.S. Zacharia, G.D. Scholes, G.A. Ozin, Nanolocomotion—Catalytic Nanomotors and Nanorotors, Small, 6 (2010) 159-167.
- [11] Y. Hong, D. Velegol, N. Chaturvedi, A. Sen, Biomimetic Behavior of Synthetic Particles: from Microscopic Randomness to Macroscopic Control, Physical Chemistry Chemical Physics, 12 (2010) 1423-1435.
- [12] T. Mirkovic, N.S. Zacharia, G.D. Scholes, G.A. Ozin, Fuel for thought: Chemically Powered Nanomotors Out-Swim Nature’s Flagellated Bacteria, Acs Nano, 4 (2010) 1782-1789.
- [13] V. Garcia-Gradilla, J. Orozco, S. Sattayasamitsathit, F. Soto, F. Kuralay, A. Pourazary, A. Katzenberg, W. Gao, Y. Shen, J. Wang, Functionalized Ultrasound-Propelled Magnetically Guided Nanomotors: Toward Practical Biomedical Applications, ACS Nano, 7 (2013) 9232-9240.
- [14] R. Mestre, N. Cadefau, A.C. Hortelão, J. Grzelak, M. Gich, A. Roig, S. Sánchez, Cover Feature: Nanorods Based on Mesoporous Silica Containing Iron Oxide Nanoparticles as Catalytic Nanomotors: Study of Motion Dynamics (2/2021), ChemNanoMat, 7 (2021) 101-101.
- [15] G.Y. Karaca, F. Kuralay, E. Uygün, K. Ozaltın, S.E. Demirbuken, B. Garipcan, L. Oksuz, A.U. Oksuz, Gold–Nickel Nanowires as Nanomotors for Cancer Marker Biodetection and Chemotherapeutic Drug Delivery, ACS Applied Nano Materials, 4 (2021) 3377-3388.
- [16] J. Wang, X. Liu, Y. Qi, Z. Liu, Y. Cai, R. Dong, Ultrasound-Propelled Nanomotors For Improving Antigens Cross-Presentation And Cellular Immunity, Chemical Engineering Journal, 416 (2021) 129091.

- [17] J. Wang, Can Man-Made Nanomachines Compete with Nature Biomotors?, *ACS nano*, 3 (2009) 4-9.
- [18] M. Ghoncheh, Z. Pournamdar, H. Salehiniya, Incidence and Mortality and Epidemiology of Breast Cancer in The World, *Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention*, 17 (2016) 43-46.
- [19] W. Gao, J. Wang, Synthetic Micro/Nanomotors in Drug Delivery, *Nanoscale*, 6 (2014) 10486-10494.
- [20] C. Phoenix, E. Drexler, Safe Exponential Manufacturing, *Nanotechnology*, 15 (2004) 869.
- [21] K.A. Williams, P. Veenhuizen, B.G. de la Torre, R. Eritja, C. Dekker, Carbon Nanotubes with DNA Recognition, *Nature*, 420 (2002) 761-761.
- [22] S. Sanchez, A.A. Solovev, S.M. Harazim, C. Deneke, Y. Feng Mei, O.G. Schmidt, The smallest Man-Made Jet Engine, *The Chemical Record*, 11 (2011) 367-370.
- [23] M.G. Van den Heuvel, C. Dekker, Motor Proteins at Work for Nanotechnology, *Science*, 317 (2007) 333-336.
- [24] M. Guix Noguera, *Nano/micromaterials and Motors In (Bio) Sensing Applications*, Universitat Autònoma de Barcelona 2013.
- [25] M. You, C. Chen, L. Xu, F. Mou, J. Guan, Intelligent Micro/Nanomotors with Taxis, *Accounts of chemical research*, 51 (2018) 3006-3014.
- [26] J.A. Tejeda Rodríguez, A. Nunez, F. Soto, V. García- Gradilla, R. Cadena- Nava, J. Wang, R. Vazquez Duhalt, Virus-Based Nanomotors for Cargo Delivery, *ChemNanoMat*, 5 (2019) 194-200.
- [27] M. Zeng, S. Yuan, D. Huang, Z. Cheng, Accelerated Design of Catalytic Water-Cleaning Nanomotors Via Machine Learning, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11 (2019) 40099-40106.
- [28] W.F. Paxton, K.C. Kistler, C.C. Olmeda, A. Sen, S.K. St. Angelo, Y. Cao, T.E. Mallouk, P.E. Lammert, V.H. Crespi, Catalytic Nanomotors: Autonomous Movement Of Striped Nanorods, *Journal of the American Chemical Society*, 126 (2004) 13424-13431.
- [29] L.K. Abdelmohsen, F. Peng, Y. Tu, D.A. Wilson, Micro-and nano-motors for Biomedical Applications, *Journal of Materials Chemistry B*, 2 (2014) 2395-2408.
- [30] B. Behkam, M. Sitti, Bacterial flagella-based Propulsion And On/Off Motion Control of Microscale Objects, *Applied Physics Letters*, 90 (2007) 023902.
- [31] R. Laocharoensuk, J. Burdick, J. Wang, Carbon-Nanotube-Induced Acceleration of Catalytic Nanomotors, *ACS Nano*, 2 (2008) 1069-1075.
- [32] A.A. Solovev, S. Sanchez, M. Pumera, Y.F. Mei, O.G. Schmidt, Magnetic Control of Tubular Catalytic Microbots for the Transport, Assembly, And Delivery of Micro Objects, *Advanced Functional Materials*, 20 (2010) 2430-2435.
- [33] W. Gao, R. Dong, S. Thamphiwatana, J. Li, W. Gao, L. Zhang, J. Wang, Artificial Micromotors in the Mouse's Stomach: A step toward in vivo use of synthetic motors, *ACS Nano*, 9 (2015) 117-123.
- [34] X. Arqué, M.D. Torres, T. Patiño, A. Boaro, S. Sánchez, C. de la Fuente-Nunez, Autonomous Treatment of Bacterial Infections in Vivo Using Antimicrobial Micro-and Nanomotors, *ACS Nano*, (2022).

- [35] M. Yan, K. Liang, D. Zhao, B. Kong, Core Shell Structured Micro Nanomotors: Construction, Shell Functionalization, Applications, and Perspectives, *Small*, 18 (2022) 2102887.
- [36] S. Fu, X. Zhang, Y. Xie, J. Wu, H. Ju, An Efficient Enzyme-Powered Micromotor Device Fabricated by Cyclic Alternate Hybridization Assembly for DNA Detection, *Nanoscale*, 9 (2017) 9026-9033.
- [37] S. Campuzano, J. Orozco, D. Kagan, M. Guix, W. Gao, S. Sattayasamitsathit, J.C. Claussen, A. Merkoçi, J. Wang, Bacterial Isolation by Lectin-Modified Microengines, *Nano Letters*, 12 (2012) 396-401.
- [38] J. Wang, K.M. Manesh, Motion control at the nanoscale, *Small*, 6 (2010) 338-345.
- [39] F. Novotný, H. Wang, M. Pumera, Nanorobots: Machines Squeezed between Molecular Motors and Micromotors, *Chem*, 6 (2020) 867-884.
- [40] Kuralay, F., Dökar, N. 2018. sayfa 59. "Sentetik Nanomotorlar", İleri Malzemeler: Biyomalzeme ve Nanomalzeme Uygulamaları, Editör: Kuralay, F. Hacettepe Üniversitesi 50. Yıl Serisi, Palme, ISBN: 978-975-491-471-9, 59-72.
- [41] Kuralay, F., Bayramlı, Y. 2018. sayfa 75. "Nanomotors: Their Synthesis and Applications", Advanced Electrochemistry, Editör: Abacı, S. 50th Year of Hacettepe University Series, Palme, ISBN:978-975-491-472-6, 75-90.
- [42] Y. Wang, R.M. Hernandez, D.J. Bartlett, J.M. Bingham, T.R. Kline, A. Sen, T.E. Mallouk, Bipolar Electrochemical Mechanism For The Propulsion of Catalytic Nanomotors in Hydrogen Peroxide Solutions, *Langmuir*, 22 (2006) 10451-10456.
- [43] J. Gibbs, Y.P. Zhao, Design and Characterization of Rotational Multicomponent Catalytic Nanomotors, *Small*, 5 (2009) 2304-2308.
- [44] Y. He, J. Wu, Y. Zhao, Designing Catalytic Nanomotors by Dynamic Shadowing Growth, *Nano letters*, 7 (2007) 1369-1375.
- [45] T.E. Mallouk, A. Sen, Powering Nanorobots, *Scientific American*, 300 (2009) 72-77.
- [46] F. Kuralay, S. Sattayasamitsathit, W. Gao, A. Uygün, A. Katzenberg, J. Wang, Self-propelled Carbohydrate-Sensitive Microtransporters with Built-In Boronic Acid Recognition for Isolating Sugars and Cells, *Journal of the American Chemical Society*, 134 (2012) 15217-15220.
- [47] L. Góth, The hydrogen peroxide paradox, *Orvosi hetilap*, 147 (2006) 887-893.
- [48] W. Gao, A. Pei, J. Wang, Water-Driven Micromotors, *ACS Nano*, 6 (2012) 8432-8438.
- [49] Y. You, D. Xu, X. Pan, X. Ma, Self-Propelled Enzymatic Nanomotors for Enhancing Synergetic Photodynamic And Starvation Therapy By Self-Accelerated Cascade Reactions, *Applied Materials Today*, 16 (2019) 508-517.
- [50] A.C. Hortelao, C. Simó, M. Guix, S. Guallar-Garrido, E. Julián, D. Vilela, L. Rejc, P. Ramos-Cabrer, U. Cossío, V. Gómez-Vallejo, Swarming Behavior And In Vivo Monitoring of Enzymatic Nanomotors Within The Bladder, *Science Robotics*, 6 (2021) eabd2823.
- [51] S. Ahmed, W. Wang, L. Bai, D.T. Gentekos, M. Hoyos, T.E. Mallouk, Density and Shape Effects In The Acoustic Propulsion Of Bimetallic Nanorod Motors, *ACS Nano*, 10 (2016) 4763-4769.

- [52] H. Choi, G.-H. Lee, K.S. Kim, S.K. Hahn, Light-Guided Nanomotor Systems For Autonomous Photothermal Cancer Therapy, *ACS applied materials & interfaces*, 10 (2018) 2338-2346.
- [53] J. Guo, J.J. Gallegos, A.R. Tom, D. Fan, Electric-Field-Guided Precision Manipulation Of Catalytic Nanomotors For Cargo Delivery And Powering Nanoelectromechanical Devices, *ACS nano*, 12 (2018) 1179-1187.
- [54] G.Y. Karaca, H.K. Kaya, F. Kuralay, A.U. Oksuz, Chitosan Functionalized Gold-Nickel Bimetallic Magnetic Nanomachines For Motion-Based Deoxyribonucleic Acid Recognition, *International Journal Of Biological Macromolecules*, 193 (2021) 370-377.
- [55] W.Z. Teo, H. Wang, M. Pumera, Beyond platinum: Silver-Catalyst Based Bubble-Propelled Tubular Micromotors, *Chemical Communications*, 52 (2016) 4333-4336.
- [56] B. Jurado-Sanchez, A. Escarpa, Milli, Micro And Nanomotors: Novel Analytical Tools For Real-World Applications, *Trac Trends In Analytical Chemistry*, 84 (2016) 48-59.
- [57] X. Chang, Y. Feng, B. Guo, D. Zhou, L. Li, Nature-Inspired Micro/Nanomotors, *Nanoscale*, 14 (2022) 219-238.
- [58] N. Taniguchi, On the Basic Concept of Nanotechnology, *Proceeding of the ICPE*, (1974).
- [59] G.A. Mansoori, Principles of Nanotechnology: Molecular-Based Study of Condensed Matter In Small Systems, *World Scientific* 2005.
- [60] A. Chałupniak, E. Morales-Narváez, A. Merkoçi, Micro and Nanomotors in Diagnostics, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 95 (2015) 104-116.
- [61] P.L. Venugopalan, B. Esteban-Fernández de Ávila, M. Pal, A. Ghosh, J. Wang, Fantastic Voyage of Nanomotors into the Cell, *ACS Nano*, 14 (2020) 9423-9439.
- [62] M. Wan, Q. Wang, R. Wang, R. Wu, T. Li, D. Fang, Y. Huang, Y. Yu, L. Fang, X. Wang, Platelet-derived Porous Nanomotor for Thrombus Therapy, *Science advances*, 6 (2020) eaaz9014.
- [63] N.F. Rosli, C.C. Mayorga-Martinez, A.C. Fisher, O. Alduhaish, R.D. Webster, M. Pumera, Arsenene Nanomotors as Anticancer Drug Carrier, *Applied Materials Today*, 21 (2020) 100819.
- [64] W. Xu, H. Qin, H. Tian, L. Liu, J. Gao, F. Peng, Y. Tu, Biohybrid Micro/Nanomotors for Biomedical Applications, *Applied Materials Today*, 27 (2022) 101482.
- [65] W. Wang, C. Zhou, A Journey of Nanomotors for Targeted Cancer Therapy: Principles, Challenges, and a Critical Review of the State of the Art, *Advanced Healthcare Materials*, 10 (2021) 2001236.
- [66] S. Balasubramanian, D. Kagan, C.M. Jack Hu, S. Campuzano, M.J. Lobo-Castañon, N. Lim, D.Y. Kang, M. Zimmerman, L. Zhang, J. Wang, Micromachine-Enabled Capture And Isolation Of Cancer Cells In Complex Media, *Angewandte Chemie*, 123 (2011) 4247-4250.
- [67] G. Yurdabak Karaca, F. Kuralay, O. Bingol Ozakpinar, E. Uygun, U. Koc, S. Ulusoy, G. Bosgelmez Tinaz, L. Oksuz, A. Uygun Oksuz, Catalytic Au/PEDOT/Pt Micromotors For Cancer Biomarker Detection And Potential Breast Cancer Treatment, *Applied Nanoscience*, (2021) 1-12.

- [68] J. Wu, S. Balasubramanian, D. Kagan, K.M. Manesh, S. Campuzano, J. Wang, Motion-based DNA detection using catalytic nanomotors, *Nature Communications*, 1 (2010) 1-6.
- [69] S. Campuzano, D. Kagan, J. Orozco, J. Wang, Motion-driven Sensing and Biosensing Using Electrochemically Propelled Nanomotors, *Analyst*, 136 (2011) 4621-4630.
- [70] L. Öksüz, G.Y. Karaca, F. Kuralay, E. Uygun, İ.Ü. Koç, A.U. Öksüz, Preparation of Self-Propelled Cu-Pt Micromotors and Their Application in Mirna Monitoring, *Turkish Journal of Chemistry*, 42 (2018) 1744-1754.
- [71] D. Kagan, S. Campuzano, S. Balasubramanian, F. Kuralay, G.-U. Flechsig, J. Wang, Functionalized Micromachines for Selective and Rapid Isolation of Nucleic Acid Targets from Complex Samples, *Nano letters*, 11 (2011) 2083-2087.
- [72] Y. Zhang, K. Yuan, L. Zhang, Micro/nanomachines: from Functionalization to Sensing And Removal, *Advanced Materials Technologies*, 4 (2019) 1800636.
- [73] P. Yang, R. Zhou, C. Kong, L. Fan, C. Dong, J. Chen, X. Hou, F. Li, Stimuli-Responsive Three-Dimensional DNA Nanomachines Engineered by Controlling Dynamic Interactions at Biomolecule-Nanoparticle Interfaces, *ACS Nano*, 15 (2021) 16870-16877.
- [74] Y. Zhang, S. Feng, G. Hu, T. Fang, D. Xie, Q. Lu, Y. Xu, L. Shen, X. Ning, An Adenovirus- Mimicking Photoactive Nanomachine Preferentially Invades and Destroys Cancer Cells through Hijacking Cellular Glucose Metabolism, *Advanced Functional Materials*, 32 (2022) 2110092.
- [75] S. Hermanová, M. Pumera, Polymer Platforms For Micro-And Nanomotor Fabrication, *Nanoscale*, 10 (2018) 7332-7342.
- [76] J. Wang, Self-propelled Affinity Biosensors: Moving The Receptor Around The Sample, *Biosensors and Bioelectronics*, 76 (2016) 234-242.
- [77] J. Orozco, A. Cortés, G. Cheng, S. Sattayasamitsathit, W. Gao, X. Feng, Y. Shen, J. Wang, Molecularly Imprinted Polymer-Based Catalytic Micromotors For Selective Protein Transport, *Journal of the American Chemical Society*, 135 (2013) 5336-5339.
- [78] K. Van Nguyen, S.D. Minter, DNA-Functionalized Pt Nanoparticles As Catalysts For Chemically Powered Micromotors: Toward Signal-On Motion-Based DNA Biosensor, *Chemical Communications*, 51 (2015) 4782-4784.
- [79] A.g. Molinero-Fernández, M. Moreno-Guzmán, L. Arruza, M.A.n. López, A. Escarpa, Polymer-based Micromotor Fluorescence Immunoassay For On-The-Move Sensitive Procalcitonin Determination in Very Low Birth Weight Infants' Plasma, *ACS sensors*, 5 (2020) 1336-1344.
- [80] B. Esteban-Fernández de Ávila, A. Martín, F. Soto, M.A. Lopez-Ramirez, S. Campuzano, G.M. Vásquez-Machado, W. Gao, L. Zhang, J. Wang, Single Cell Real-time miRNAs Sensing Based on Nanomotors, *Acs Nano*, 9 (2015) 6756-6764.
- [81] V. Oravczová, Z. Garaiová, T. Hianik, Nanoparticles and Nanomotors Modified by Nucleic Acids Aptamers for Targeted Drug Delivery, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 47 (2021) 344-366.
- [82] B.J. Toebes, F. Cao, D.A. Wilson, Spatial Control Over Catalyst Positioning on Biodegradable Polymeric Nanomotors, *Nature communications*, 10 (2019) 1-6.

- [83] S. Demirci, İletken Polimer Temelli Kontrollü İlaç Salınım Sistemlerinin Geliştirilmesi, Serpil Demirci, 2015.
- [84] W. Gao, S. Sattayasamitsathit, J. Orozco, J. Wang, Highly Efficient Catalytic Microengines: Template Electrosynthesis of Polyaniline/Platinum Microtubes, *Journal of the American Chemical Society*, 133 (2011) 11862-11864.
- [85] S. Carvajal, S.N. Fera, A.L. Jones, T.A. Baldo, I.M. Mosa, J.F. Rusling, C.E. Krause, Disposable Inkjet-Printed Electrochemical Platform For Detection Of Clinically Relevant HER-2 Breast Cancer Biomarker, *Biosensors and Bioelectronics*, 104 (2018) 158-162.
- [86] E.B. Souto, S. Doktorovova, J.R. Campos, P. Martins-Lopes, A.M. Silva, Surface-tailored anti-HER2/neu-solid Lipid Nanoparticles For Site-Specific Targeting MCF-7 and BT-474 Breast Cancer Cells, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 128 (2019) 27-35.
- [87] O. Akbal, T. Vural, S. Malekghasemi, B. Bozdoğan, E.B. Denkbaş, Saponin Loaded Montmorillonite-Human Serum Albumin Nanocomposites As Drug Delivery System In Colorectal Cancer Therapy, *Applied Clay Science*, 166 (2018) 214-222.
- [88] L.T. Truong, M. Chikae, Y. Ukita, Y. Takamura, Labelless Impedance Immunosensor Based On Polypyrrole-Pyrolecarboxylic Acid Copolymer for hCG Detection, *Talanta*, 85 (2011) 2576-2580.
- [89] D. de Melo Gagliato, D.L.F. Jardim, M.S.P. Marchesi, G.N. Hortobagyi, Mechanisms of Resistance and Sensitivity to anti-HER2 Therapies in HER2+Breast Cancer, *Oncotarget*, 7 (2016) 64431.
- [90] S. Loibl, L. Gianni, HER2-positive Breast Cancer, *The Lancet*, 389 (2017) 2415-2429.
- [91] Y.W. Hartati, L.K. Letelay, S. Gaffar, S. Wyantuti, H.H. Bahti, Cerium oxide-Monoclonal Antibody Bioconjugate For Electrochemical Immunosensing of HER2 as A Breast Cancer Biomarker, *Sensing and Bio-Sensing Research*, 27 (2020) 100316.
- [92] J. Mohammadnejad, M.J. Rasaei, M.H. Babaei, M. Paknejad, Z.M. Hasan, M. Salouti, M. Gandomkar, K. Sadri, Radioimmunotherapy of MCF7 Breast Cancer Cell Line With ¹³¹I-PR81 Monoclonal Antibody Against MUC1: Comparison of Direct and Indirect Radioiodination Methods, *Human antibodies*, 19 (2010) 15-25.
- [93] D.L. Holliday, V. Speirs, Choosing the Right Cell Line for Breast Cancer Research, *Breast Cancer Research*, 13 (2011) 1-7.
- [94] E. Crowley, F. Di Nicolantonio, F. Loupakis, A. Bardelli, Liquid biopsy: Monitoring Cancer-Genetics in The Blood, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 10 (2013) 472-484.
- [95] Y. Li, M. Hu, X. Huang, M. Wang, L. He, Y. Song, Q. Jia, N. Zhou, Z. Zhang, M. Du, Multicomponent Zirconium-Based Metal-Organic Frameworks for Impedimetric Aptasensing of Living Cancer Cells, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 306 (2020) 127608.
- [96] F. Vajhadin, S. Ahadian, J. Travas-Sejdic, J. Lee, M. Mazloun-Ardakani, J. Salvador, G.E. Aninwene II, P. Bandaru, W. Sun, A. Khademhossieni, Electrochemical Cytosensors for Detection of Breast Cancer Cells, *Biosensors and Bioelectronics*, 151 (2020) 111984.

- [97] E.L.K. Chng, G. Zhao, M. Pumera, Towards Biocompatible Nano/Microscale Machines: Self-Propelled Catalytic Nanomotors Not Exhibiting Acute Toxicity, *Nanoscale*, 6 (2014) 2119-2124.
- [98] S. Gao, J. Hou, J. Zeng, J.J. Richardson, Z. Gu, X. Gao, D. Li, M. Gao, D.W. Wang, P. Chen, Superassembled Biocatalytic Porous Framework Micromotors with Reversible and Sensitive pH Speed Regulation at Ultralow Physiological H_2O_2 concentration, *Advanced Functional Materials*, 29 (2019) 1808900.
- [99] Y. Huang, T. Li, W. Gao, Q. Wang, X. Li, C. Mao, M. Zhou, M. Wan, J. Shen, Platelet-derived Nanomotor Coated Balloon for Atherosclerosis Combination Therapy, *Journal of Materials Chemistry B*, 8 (2020) 5765-5775.
- [100] M.A. Tabrizi, M. Shamsipur, R. Saber, S. Sarkar, Isolation of HL-60 Cancer Cells From The Human Serum Sample Using MnO_2 -PEI/Ni/Au/aptamer as a Novel Nanomotor And Electrochemical Determination Of Thereof By Aptamer/Gold Nanoparticles-poly (3, 4-ethylene dioxythiophene) modified GC electrode, *Biosensors and Bioelectronics*, 110 (2018) 141-146.
- [101] Y. Shen, W. Zhang, G. Li, P. Ning, Z. Li, H. Chen, X. Wei, X. Pan, Y. Qin, B. He, Adaptive Control of Nanomotor Swarms for Magnetic-Field-Programmed Cancer Cell Destruction, *ACS nano*, 15 (2021) 20020-20031.

EK 2- Videolar

Video 1: Düşük derişimdeki H₂O₂ ile hareket eden PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorların videosu.

Video 2: Düşük derişimdeki H₂O₂ ile hareket eden PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorların videosu.

Video 3: %30 derişimindeki H₂O₂ ile hareket eden PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorların videosu.

Video 5: Manyetik hareket: PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotorların videosu.

Video 6: 3 farklı PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlar ile kontrollü hareketin videosu.

Video 7: %0,5 H₂O₂ derişiminde hareket edebilen PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotor videosu.

Video 8: 15 dk EDC/NHS inkübasyon sonrası PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotor videosu.

Video 9: 15 dk EDC/NHS inkübasyon sonrası PPy/PPy-COOH temelli katalitik nanomotor videosu.

Video 10: AntiHER2 yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorların MCF-7 hücreleri ile etkileşimine ait video - 1

Video 11: AntiHER2 yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorların MCF-7 hücreleri ile etkileşimine ait video - 2

Video 12: AntiHER2 yüklü PEDOT/PEDOT-COOH temelli nanomotorların MCF-7 hücreleri ile etkileşimine ait video - 3

Video 13: Anti insan albümin antikorunun immobilize edildiği PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlar - kontrol deneylerine ait video.

Video 14. AntiHER2 immobilize edilmiş PEDOT/PEDOT-COOH temelli katalitik nanomotorlar ile SH-SY5Y hücreleri - kontrol deneylerine ait video.