

**Si(100) DİSK YÜZEYİNE KOVALENT BAĞLI AKILLI BİYOLOJİK
AKTİVİTEYE SAHİP POLİMER KATKILI MOLEKÜL TASARIMI**

AYŞE VAKIFLI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EYLÜL 2008
ANKARA**

Ayşe VAKIFLI tarafından hazırlanan Si(100) DİSK YÜZEYİNE KOVALENT BAĞLI AKILLI BİYOLOJİK AKTİVİTEYE SAHİP POLİMER KATKILI MOLEKÜL TASARIMI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA
Tez Danışmanı, Kimya Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nursel DİLSİZ
Kimya Müh., Gazi Üniversitesi
Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA
Kimya, Gazi Üniversitesi
Prof. Dr. Leyla AÇIK
Biyoloji, Gazi Üniversitesi
Doç. Dr. Bülent DÜZ
Kimya, Hacettepe Üniversitesi
Doç. Dr. Nursel PEKEL
Kimya, Hacettepe Üniversitesi

Tarih: 09 / 09 / 2008

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nermin ERTAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ayşe VAKIFLI

**Si(100) DİSK YÜZEYİNE KOVALENT BAĞLI AKILLI BİYOLOJİK
AKTİVİTEYE SAHİP POLİMER KATKILI MOLEKÜL TASARIMI
(Yüksek Lisans Tezi)**

AYŞE VAKIFLI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Eylül 2008**

ÖZET

Bu çalışmada, 12-Hidroksidodekonik asit (HDA), bis (3-aminopropil) sonlu poli (dimetilsiloksan) $[\text{NH}_2\text{-(PDMS)}_{n=2500}\text{-NH}_2]$, biyotin, streptavidin ve biyotinlenmiş Protein A moleküllerini içeren Si(100) yüzeyinde kovalent bağlı yeni bir çoklu tabaka sistemi oluşturuldu ve tasarlanan yüzeyler yönlendirilmiş immünoglobulin G (IgG) immobilizasyonu için kullanıldı. Bu moleküller şu sebeplerden dolayı seçilmiştir: 1) HDA molekülü hem iyi mekanik özelliklere hem de hidroksil ve karboksilik asit gibi iki farklı fonksiyonel gruba sahiptir. Bu nedenle kendiliğinden düzenlenen tek tabakaların (KDTT) hazırlanmasında sıklıkla kullanılan bir moleküldür. 2) $\text{NH}_2\text{-(PDMS)}_{n=2500}\text{-NH}_2$ molekülü, yüksek zincir esnekliğine ve amin uç gruplarına sahip olması nedeniyle seçilmiştir. Bu esnek yapı sayesinde amin grupları biyotin molekülü ile kolayca etkileşebilmektedir. 3) Biyotin (vitamin H) molekülü streptavidin molekülüne karşı çok yüksek bir bağlanma sabitine ($K_{\text{ayırılma}}=10^{-15}$ M) sahiptir. 4) Streptavidin bağlanması ile yüzeyler biyotinlenmiş Protein A immobilizasyonu için hazır hale

getirilmiştir. 5) Protein A molekülü ise IgG molekülünün immobilizasyonu için kullanılan spesifik bir moleküldür. Hazırlanan çoklu tabakaların kalınlıkları spektroskopik elipsometre (SE) ile ölçülmüştür. Yüzeylerin karakteristik özellikleri hafifletilmiş toplam yansıtma Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (ATR-FTIR), atomik kuvvet mikroskobu (AFM), flüoresans mikroskobu ve su değme açısı ölçümleri ile analiz edilmiştir. Bu sonuçlara göre; Protein A sonlu ve elipsometre bileşimli yüzeyler, immünosensör protein çip geliştirilmesinde önemli bir potansiyele sahip olacaktır.

Bilim Kodu : 201.1.117
Anahtar Kelimeler : Nanoteknoloji, kendiliğinden düzenlenmiş tek tabakalar, protein çip, immünosensör
Sayfa Adedi : 81
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA

**THE MOLECULE DESIGN OF POLYMER ADDITIVE WITH SMART
BIOACTIVE COVALENTLY ATTACHED TO Si(100) DISC SURFACE
(M.Sc. Thesis)**

AYŞE VAKIFLI

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
September 2008**

ABSTRACT

In this study, a novel multilayer system consisting of 12-hydroxydodecanoic acid (HDA), poly(dimethylsiloxane), bis(3-aminopropyl) terminated $[\text{NH}_2\text{-(PDMS)}_{n=2500}\text{-NH}_2]$, biotin, streptavidin, and biotinated Protein A covalently attached on Si(100) surface was formed and used for the oriented immobilization of immunoglobulin G (IgG). These molecules were chosen for the following reasons. 1) The HDA molecule has both good mechanical properties and two different functional groups such as hydroxyl and carboxylic acid. Therefore, it is one of the most useful molecule for the preparation of self-assembled monolayer (SAM). 2) $\text{NH}_2\text{-(PDMS)}_{n=2500}\text{-NH}_2$ was selected as a flexible molecule with terminal amino groups and it has more freedom to tilt or bend for attachment of biotin to all of the available amino groups. 3) Biotin (vitamin H) has an extremely high binding constant ($K_d=10^{-15}$ M) tetravalent streptavidin. 4) When streptavidin is bound to the overlayer, a biotinated Protein A is readily immobilized. 5) Biotinated Protein A is specific biomolecule for IgG immobilization. The thicknesses of the

prepared multilayer systems were measured by spectroscopic ellipsometry (SE). The surface characteristics were analyzed by attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR), atomic force microscopy (AFM), fluorescence microscopy and water contact angle measurements. As a result, the combination of ellipsometry and Protein A terminated surface will be possessed the potential to be further developed into an efficient immunosensor protein chip.

Science Code : 201.1.117
Key Words : Nanotechnology, self-assembled monolayers,
protein chip, immunosensor
Page Number : 81
Adviser : Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım süresince ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA' ya saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 'na 107T109 nolu "Yüzeyde Başlatılan Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu ile Si(100) Yüzeyine Kovalent Bağlı Polimerik Tek Tabakaların Hazırlanması ve Yönlendirilmiş IgG İmmobilizasyonunda Kullanımı" adlı projedeki burs desteğinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Deneylerim sırasında bilgilerini benimle paylaşan ve bana her konuda yardımcı olan laboratuvar arkadaşlarım Eylem TURAN, Serkan DEMİRCİ, Gökçen BİRLİK ve Dilek ÇİMEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KENDİLİĞİNDEN DÜZENLENEN TEK TABAKALAR	6
2.1. Kendiliğinden Düzenlenen Tek Tabakaların Nanoteknolojideki Yeri	6
2.2. Kendiliğinden Düzenlenen Tek Tabakaların Oluşumu	8
2.2.1. Altın üzerinde oluşturulan tek tabakalar	12
2.2.2. Si yüzeyler üzerinde oluşturulan tek tabakalar	14
2.3. Kendiliğinden Düzenlenme ile Tasarlanmış Biyosensörler.....	19
3. YÜZEY KARAKTERİZASYON YÖNTEMLERİ	23
3.1. Atomik Kuvvet Mikroskobu	23
3.1.1. Atomik kuvvet mikroskobunun çalışma ilkesi	24
3.1.2. Atomik kuvvet mikroskobunun kullanım alanları	25
3.2. Elipsometre	26
3.2.1. Elipsometrenin çalışma ilkesi	27
3.2.2. Elipsometrenin kullanım alanları	27

	Sayfa
4. DENEYSEL KISIM	29
4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	29
4.1.1. Silisyum yüzeylerin temizlenmesinde ve hidroksillenmiş yüzeylerin hazırlanmasında kullanılan maddelerin yapı ve özellikleri	29
4.1.2. Silisyum yüzeyler üzerinde oluşturulan tekli tabakaların hazırlanmasında kullanılan maddelerin yapı ve özellikleri	29
4.1.3. Hazırlanan yüzeylerin antijen-antikor bağlanma özelliklerinin incelenmesinde kullanılan maddelerin yapı ve özellikleri	31
4.2. Yüzeylerin Temizlenmesi	32
4.3. Temizlenmiş ve Aktifleştirilmiş Yüzeyle Organik Moleküllerin Bağlanması	33
4.3.1. Bis(3-aminopropil) sonlu poli(dimetil siloksan) bağlı yüzeylerin hazırlanması	33
4.3.2. Bis(3-aminopropil) sonlu poli(dimetil siloksan) ile aktifleştirilmiş yüzeylere biyomolekül bağlanması	33
4.4. Yüzeylerin Kimyasal ve Biyokimyasal Karakterizasyonu	34
4.4.1. ATR-FTIR spektroskopisi	34
4.4.2. Elipsometre	34
4.4.3. Atomik kuvvet mikroskobu	35
4.4.4. Su değme açısı ölçümleri	35
4.4.5. Flüoresans mikroskobu	35
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	36
5.1. HDA ve PDMS ile Hazırlanan Yüzey Tasarımı	36
5.2. Yüzeylerin Karakterizasyonu	41

	Sayfa
5.2.1. Yüzeylerin kimyasal yapısı	41
5.2.2. Yüzey ıslanabilirliği ve pürüzlülüğü.....	44
5.2.3. Yüzeylerin kalınlığı	49
5.2.5. Yüzey morfolojisi	51
5.2.4. Yüzey deseni.....	64
6. SONUÇLAR	66
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ.....	81

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. İnorganik substratlar üzerine kendiliğinden düzenlenme ile oluşan tekli tabakalar	17
Çizelge 2.2. Kendiliğinden düzenlenmiş tek tabakaların karakterizasyonunda kullanılan teknikler	18
Çizelge 5.1. İşlem görmemiş, hidrosillenmiş ,bromlanmış, HDA bağlı ve PDMS bağlı yüzeylerin su değme açısı değerleri	45
Çizelge 5.2. HDA bağlı ve PDMS bağlı yüzeylerin histerizi ölçümleri	47
Çizelge 5.3. Hazırlanan yüzeylerin her aşamasındaki kalınlık değerleri	49
Çizelge 5.4. HDA, PDMS ve biyomoleküller ile tasarlanmış silisyum yüzeyler için elde edilen RMS değerleri.....	63

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. SAM'lerin şematik gösterimi	9
Şekil 2.2. Yüzeye aşılama yönteminin şematik gösterimi : Polimer uç grupları B ile yüzeydeki A uç gruplarının reaksiyonu	10
Şekil 2.3. Yüzeyde başlatılan polimerleşmenin şematik gösterimi : Başlatıcı bölgeleri bağlı yüzeyden monomer ilavesi ile polimer zincirlerinin büyümesi	10
Şekil 2.4. Karışık polimer fırçaların hazırlanması	11
Şekil 2.5. SAM'ler a) altın üzerine alkantiyoller b) silisyum oksit üzerine alkan silanlar (X: fonksiyonel grup)	12
Şekil 2.6. Altın yüzeyler üzerine tiyol grupları ile oluşturulmuş SAM	13
Şekil 2.7. Organosilan moleküllerinin, oksit yüzey üzerindeki hidroksil gruplarıyla reaksiyonu sonucu SAM oluşumu.....	14
Şekil 2.8. Radikalik reaksiyonla Si-H yüzey üzerinden SAM oluşumu	15
Şekil 2.9. Isısal aktivasyon ve fotoaktivasyon ile SAM oluşumu	15
Şekil 2.10. SAM'lerin hazırlanması	16
Şekil 2.11. Antikorların etkileşim bölgeleri: a) Antikor-antijen etkileşmesi, b) Antikorlardaki F _{ab} ve F _c bölgeleri	20
Şekil 2.12. İki farklı tabaka üzerine IgG immobilizasyonu: a) Alifatik zincirli molekül (11-MUA) üzerine IgG immobilizasyonu : <i>karışık yönlendirme</i> b) Tiyollenmiş Protein-G molekülü üzerine IgG immobilizasyonu : <i>düzgün yönlendirme</i>	21
Şekil 3. 1. Atomik kuvvet mikroskobu ve bölümleri	24
Şekil 3.2. Elipsometre ve bölümleri	27

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. HDA, 1-dodekanol, PDMS, EDC, NHS, NBS 'nin moleküler yapıları	30
Şekil 4.2. Biotin ve Streptavidin moleküllerinin yapıları	32
Şekil 5.1. HDA ve PDMS molekülleri ile Si (100) yüzeyler üzerinde gerçekleştirilen yüzey tasarımı.....	38
Şekil 5.2. HDA bağlı silisyum yüzeylerin EDC/NHS ile aktifleştirilme mekanizması ve PDMS bağlanması	41
Şekil 5.3. ATR-FTIR spektrumları; (a) PDMS sonlu yüzey, (b) HDA sonlu yüzey, (c) İşlem görmemiş SiO ₂ yüzeylerin FT-IR spektrumları	42
Şekil 5.4. PDMS sonlu yüzeylerin 20, 50, 70, 90, 110, 125 ve 150 °C 'daki tavlama sıcaklıklarında alınan FT-IR spektrumları.....	43
Şekil 5.5. İşlem görmemiş (a), hidroksillenmiş (b) ,bromlanmış (c) , HDA bağlı (d) ve PDMS bağlı (e) silisyum yüzeylerin su değme açısı görüntüleri	46
Şekil 5.6. Histerizi ölçümleri; (a) damlanın büyümesi (ilerleme açısı, θ_A) , (b) damlanın küçülmesi (gerileme açısı, θ_R).....	47
Şekil 5.7. HDA-PDMS ile tasarlanmış yüzeyin değme açısı-sıcaklık grafiği.....	48
Şekil 5.8. HDA ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri.....	53
Şekil 5.9. HDA-PDMS ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri.....	55
Şekil 5.10. HDA-PDMS-biotin ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri.....	57
Şekil 5.11. HDA-PDMS-biotin-streptavidin ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri	59

Şekil		Sayfa
Şekil 5.12.	HDA-PDMS-biyotin-streptavidin-biyotinlenmiş Protein A ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri.....	61
Şekil 5.13.	HDA-PDMS-biyotin-streptavidin-biyotinlenmiş Protein A-IgG ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri.....	62
Şekil 5.14.	HDA-PDMS ile tasarlanmış yüzeyler üzerine biyomoleküllerin bağlanması ve IgG'nin tutuklanması ile elde edilmiş Flüoresans mikroskobu görüntüleri: (a) hidroksillenmiş silikon yüzey (x100), (b) IgG tutuklanmış yüzey (x40), (c) IgG tutuklanmış yüzey (x100).....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
H	Histerizi
θ_A	İlerleme açısı
θ_R	Gerileme açısı

Kısaltmalar	Açıklama
SAM	Kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar
HDA	12-Hidroksidodekonik asit
PDMS	Bis (3-aminopropil) sonlu poli (dimetilsiloksan)
EDC	1-Etil-3-(3-dietilamino-propil) karbodiimid
NHS	N-hidroksisüksinimit
DNA	Deoksiribonükleik asit
IgG	İmmünoglobulin G
FITC	Flüoresan izotiyosiyanat
APTES	3-aminopropiltrietoksisilan
APTMS	3-aminopropiltrimetoksisilan
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
STM	Tarama tünelleme mikroskobu
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
XPS	X ışını fotoelektron spektroskopisi
ATR-FTIR	Hafifletilmiş toplam yansıtma Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi
SE	Spektroskopik elipsometre

1.GİRİŞ

Nano kelime anlamı ile herhangi bir fiziksel büyüklüğün bir milyarda biri anlamına gelmektedir. Nano yapılar uzunluk olarak bakıldığında yaklaşık 10-100 atomluk sistemlere (10^{-9} metre) karşılık gelmektedirler. Bu boyutlarda sistemlerin fiziksel davranışlarında normal sistemlere kıyasla farklı özellikler gözlemlenmektedir. Nanobilim ve nanoteknoloji olarak nitelendirilen bu farklılıklar yaklaşık 10 seneden beri dünya ülkelerinin sivil-askeri, bilim ve teknoloji stratejilerini belirler hale gelmiştir.

Nano ölçek seviyesinde malzemelerin özellikleri makroskobik ölçekten tamamen farklı olup nano ölçeğe yaklaştıkça birçok özel, yararlı ve yeni özellikler ortaya çıkmaktadır. Günümüzde maddeyi nanometre seviyesinde işleyerek ve ortaya çıkan değişik özellikleri kullanarak, yeni teknolojik nano-ölçekte aygıtlar ve malzemeler yapmak mümkün olmuştur. Örneğin, taramalı tünelleme ve atomik kuvvet mikroskoplarını (STM ve AFM) kullanarak yüzey üzerinde atomları iterek birbirlerinden ayırmak ve istenilen şekilde dizmek mümkündür. Bütün bu gelişmeler, 19. yüzyılda dünyayı yeniden şekillendiren sanayi devrimine eşdeğer bir bilimsel ve teknolojik devrim başlatmıştır. Bu şekilde atom ve moleküller ile oynayarak tek molekülden oluşan transistör ve elektronik aygıtlar gerçekleştirilmiştir. Bütün bu çalışmalar ve gelişmeler elektronik, kimya, biyokimya, fizik, malzeme bilimi, uzay ve hatta sağlık bilimlerini bir ortak arakesitte buluşturmuştur [1].

Biyokimyasal olayları yürüten başta protein olmak üzere birçok biyomolekülün tanınması, sahip oldukları fonksiyonların ve aralarındaki etkileşimlerin aydınlatılması yeni yöntemlere ve cihazlara gerek duymaktadır. Biyoçip/biyosensör teknolojisi bu yönde geliştirilen en önemli teknoloji olarak düşünülse de henüz istenilen ölçümleri kolay, hızlı, duyarlı ve ekonomik boyutta yapmaya yeterli sayıda yöntem ve cihaz içermemektedir. Biyoçip hazırlama tekniklerinden biri olan kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar (self assembled monolayers, SAM) çeşitli yüzeyler üzerinde

hazırlanan nanoboyuttaki tasarımlardır. Kendiliğinden düzenlenme yöntemi biyoçip teknolojisinde önemli bir yere sahiptir. Bunun nedeni yüzeyler üzerine yapılan tasarımların kolay gerçekleştirilebilmesi, yöntemin ucuzluğu ve moleküler düzenleme ile istenilen tasarımların gerçekleştirilebilmesidir [2].

Bir yüzeye molekül bağlamak için, substrat (alt tabaka) yüzey üzerine istenilen molekülün çözeltilisinin ilavesiyle, SAM kolayca hazırlanabilir. Molekülün aşırısı ise yıkama ile uzaklaştırılır [3, 4]. Çok çeşitli moleküller kullanılarak birçok fonksiyonel gruba sahip yüzeyler hazırlanabilir. Literatürde bu yönde hazırlanan bir çok çalışma bulunmaktadır .

Duvez ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, altın yüzey üzerine oktadekantiyol, silisyum yüzeyine oktadesiltriklorosilan ve yine silisyum yüzeyine oktadesiltrimetoksisilan molekülleri ile $-CH_3$ sonlu yüzeyler tasarlanmış ve bu yüzeylerin karakterizasyonu atomik kuvvet mikroskobu (AFM), elipsometre ve değme açısı cihazı ile belirlenmiştir [5].

Cha ve arkadaşlarınca gerçekleştirilen bir çalışmada Si(111) yüzeyler temizlenip klorlandıktan sonra poli (etilen glikol) polimeri bağlanmıştır. Elde edilen $-OH$ sonlu yüzeylere sırasıyla p-maleimidofenil izosiyanat ve DNA oligomeri bağlanmış ve biyomolekül sonlu bu yüzeyler X ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ve flüoresans mikroskobu ile karakterize edilmiştir [6].

Bain ve Whitesides tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada farklı uzunluklara sahip uzun zincirli ω -hidroksialkantiyoller $[HS(CH_2)_nOH]$ ile altın yüzeyinde SAM'ler oluşturulmuş ve bu yüzeylerin karakterizasyonu elipsometre ve değme açısı cihazı ile belirlenmiştir [7].

Yine Bain ve Whitesides tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada uzun zincirli $HS(CH_2)_{21}CH_3$ tiyol molekülü ve $HS(CH_2)_{11}OH$ tiyol molekülü ile altın üzerinde karışık tek tabakalar hazırlanmıştır. Tasarlanan yüzeyler elipsometre, değme açısı cihazı ve XPS ile karakterize edilmiştir [8].

Knoll ve çalışma grubunca yapılan bir çalışmada ise altın yüzeyler üzerine tiyol molekülleri kullanılarak düzenleme yapılmıştır. Elde edilen asit sonlanmış yüzeylere biyotin molekülleri bağlanarak yüzeylerin streptavidin proteinini tanıması sağlanmıştır. Streptavidin özel bir moleküldür ve yapısında biyotin molekülünün bağlanması için 4 adet aktif bölge içerir. Bu özelliği kullanılarak yüzeyler üzerinde biyolojik aktiviteye sahip yüzeyler hazırlanabilir. Yine aynı çalışmada streptavidin bağlanmış yüzeylerin protein bağlama kapasiteleri incelenmiştir. Yüzeyler yüzey plazma rezonans ve flüoresans mikroskobu kullanılarak karakterize edilmiştir [9].

Brushan ve Liu tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise, Au(111) ve Si(111) yüzeyler üzerine heksadekantiyol, 1,1'-bifenil-4-tiyol, 16-merkaptohexadekanoik asit ve 4,4'-dihidroksibifenil molekülleri kullanılarak hazırlanan yüzeylerin sürtünme özellikleri incelenmiştir. Yüzeyler AFM ve değme açısı ölçüm cihazı ile karakterize edilmiştir [10].

Hooper ve çalışma arkadaşlarınca altın ve silisyum yüzeyler üzerinde oluşturulan amin sonlu kendiliğinden düzenlenen tek tabakaların *Escherichia coli* bakterisini tutma kapasiteleri araştırılmıştır. Düzenlemeler 3-aminopropiltrioksilan (APTES) ve 3-aminotiyofenol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan yüzeyler XPS, FTIR, ile karakterize edilmiş, bakteri bağlama kapasitesi ise flüoresans mikroskobu ile incelenmiştir [11].

Yuan ve Oouji çinko yüzeyler üzerinde APTES ve 3-üridopropiltrioksilan molekülleri ile kendiliğinden düzenlenen filmler elde etmişlerdir. Çalışmalarında bu moleküllerin düzenlenmeleri üzerine, çözelti derişimi, ortam pH'sı, sıcaklık ve bekletilme süresinin etkilerini elipsometre cihazı ile incelemişlerdir. Moleküllerin yüzeyler üzerindeki düzenlenmesi kalınlık ölçümlerine göre yorumlanmıştır [12].

Bain ve çalışma arkadaşlarınca gerçekleştirilen bir çalışmada, Si(111) yüzeyler, krom ve altın ile kaplandıktan sonra 11-merkaptoundekanol ve bis(11-hidroksiundesil)disüfit molekülleri kullanılarak düzenlemeler gerçekleştirilmiştir. Tasarlanan yüzeyler değme açısı ölçüm cihazı, XPS ve elipsometre ile karakterize edilmiştir [13].

Ren ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Si(111) yüzey üzerine oktadesiltriklorosilan molekülü kullanılarak hazırlanan yüzeylerin sürtünme özellikleri tribometre ile diğer karakterizasyon işlemleri ise XPS, AFM ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir [14].

Zhu ve çalışma arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Si(100) yüzeyler üzerinde iki ayrı çift tabaka (dual-layer) hazırlanmıştır. İlk çift tabaka olarak yüzeylere sırasıyla, APTES ve perflorododekanoik asit (PFDA) molekülleri bağlanmış, ikinci çift tabaka olarak ise sırasıyla APTES ve laurik asit (dodekanoik asit) (LC) bağlanmıştır. Tepkime APS molekülünün amin grubu ile PFDA ve LC moleküllerinin karboksil grupları arasında kimyasal bağlanma ile gerçekleşmiştir. Hazırlanan çift tabakalı yüzeylerin kimyasal karakterizasyonu değme açısı cihazı, elipsometre, AFM, XPS ve tribometre ile incelenmiştir [15].

Bütün bu araştırmalar, yüzeyler üzerine hazırlanacak tekli ve çoklu tabakaların işlevinin ve karakterizasyonunun önemini ortaya koymaktadır. Ancak, bu çalışmalarda altın veya silisyum yüzeylere n-alkantiyollerin (özellikle 12 karbonlu bileşikler) veya başka moleküllerin adsorpsiyonla yüzeye tutunmaları ve bu moleküllerin sert zincir yapısına sahip olmaları özellikle yüksek mol kütleli biyomolekül adsorpsiyonunda moleküler kırılmalara sebep olmaktadır. Bunun yanında, ortam sıcaklığının artırılması ile adsorplanan ilk tabakaların yüzeyden desorbe olmaları sebebiyle biyosensör uygulamalarında sorun oluşturmaktadır. Bu durum hazırlanan yüzeylerin flüoresans mikroskobu çalışmalarıyla elde edilen yüzey desenlerinin gelişigüzel dağılım göstermesinden [10, 12] anlaşılmaktadır.

Bu olumsuzluklar sebebiyle bu çalışmada, Si(100) yüzeyleri üzerine kovalent bağlı, mekanik dayanımı iyi, zincir esnekliğine sahip ve sıcaklık duyarlı amino uç gruplu bis (3-aminopropil) sonlu poli (dimetilsiloksan) (PDMS) polimerik tabakalar hazırlanıp karakterize edilmiştir. Yüzeylerin tasarımı için öncelikle, doğal oksit tabakasına sahip silisyum yüzeyler, etanol ve UV/O₃ ile temizlenmiş ve hidrosillenmiştir. Aktifleştirilmiş bu yüzeyler derişik bromik asit çözeltisinde bekletilmiş ve brom bağlanmış aktif yüzeyler elde edilmiştir. Daha sonra kendiliğinden düzenlenmeyi sağlayacak ilk molekül olan 12-Hidroksidodekanoik asit (HDA) bağlanmışdır. Bu amaçla hidrosillenmiş yüzeyler, etanol içerisinde hazırlanmış HDA/1-Dodekanol çözeltisi içerisinde 50°C'da bekletilmiş ve bu şekilde kendiliğinden düzenlenme gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, bis (3-aminopropil) sonlu poli (dimetilsiloksan) (PDMS) molekülü yüzeye bağlanmışdır. Bunun için öncelikle HDA bağlı yüzeyler EDC/NHS (1-Etil-3-(3-dietilamino-propil) karbodiimid/ N-hidroksisüksinimit) sulu çözeltisinde bekletilmiş ve amitleştirme reaksiyonu için aktif hale getirilmiştir. Ardından diklorometan içerisinde PDMS çözeltisi hazırlanmış ve yüzeyler bu çözeltide bekletilerek polimer bağlanması sağlanmışdır.

Yüzeylere, biyokimyasal aktivite kazandırmak için sırasıyla biyotin, streptavidin, biyotinlenmiş Protein A molekülleri bağlanmış ve immünoglobulin G (IgG) molekülü tutuklanmıştır (immobilizasyon). Yüzeylerin biyolojik aktifliği flüoresans etiketli IgG molekülü kullanılarak incelenmiştir.

Hazırlanan yüzeylerin kimyasal yapısı *ATR-FTIR (Hafifletilmiş toplam yansıtma Fourier dönüşümlü infrared) spektroskopisi*, hidrofilik-hidrofobik karakteri, pürüzlülüğü ve sıcaklık duyarlılığı *değme açısı ölçüm cihazı*, kalınlığı *elipsometre cihazı*, desenleri *flüoresans mikroskopu*, morfolojileri ise *AFM* kullanılarak araştırılmışdır.

2. KENDİLİĞİNDEN DÜZENLENEN TEK TABAKALAR

2.1. Kendiliğinden Düzenlenen Tek Tabakaların Nanoteknolojideki Yeri

Nanoteknolojinin bir çok kullanım alanı vardır: *Endüstriyel alanda*; mikro makineler, mikro pompalar, mikro sensörler geliştirme, optoelektronik elemanların imali, bir araya getirilmesi, nano boyutlu kaplamalar, tek tabaka (monolayer) katalizörlerle tepkimelerin kontrolü, nano boyutlu elemanlar arası bağlantılar, chip ve CD üretimi. *Tıp ve sağlık alanında*; mikro-nano cerrahi (özellikle göz ve beyin cerr.), diyagnostik kitler, hücre, doku ve moleküler (DNA gibi) hasar belirlenmesi ve onarımı. *Bilimsel araştırmalarda ise*; yüzey karakterizasyonu ve modifikasyonu, mikroorganizmaların taşınması, DNA modifikasyonu [16, 17].

Nanomalzeme üretiminde temel olarak iki farklı yaklaşımdan söz edilebilir:

1. *Yukarıdan-aşağıya (top-down)*: Bu yaklaşımda ağırlıklı olarak litografik yöntemler kullanılmaktadır. Litografi; bir desenin, tabakadan parıldayan ışığın maskeden geçip silisyum tabakaya ulaşmasıyla transfer edilmesi işlemidir. Maske ışığa şekil vererek istenilen desenin gerçekleşmesini sağlar. Bu daha sonra çip haline getirilir. Sonuç olarak litografi ile tabaka üzerinde istenilen desende çipler elde edilebilmektedir. Nano-litografi ise nano boyutta aletler kullanarak molekül ve atom düzeyindeki malzemelerin bir yere biriktirilmesi veya oradan uzaklaştırılmasıdır.

2. *Aşağıdan-yukarıya (bottom-up)*: Bu yaklaşımda ise, moleküler-atomik birimleri bir araya getirmek için süpramoleküler kimyadan yararlanır. Süpramoleküler kimya, moleküllerin, fonksiyonel moleküler ya da molekül toplulukları oluşturmak üzere bir araya getirilmesinin ya da kendiliğinden bir araya gelmesinin (self-assembly) kurallarını inceler. Bu özelliği ile "aşağıdan-yukarıya" nanoteknoloji yaklaşımının moleküler yapısını oluşturmaktadır. Kolloid ve sol-jel yöntemleri de bu gruba dahildir. Nanotüpler, nanoteller ya

da benzeri nano-bileşenler, süpramoleküler kimya aracılığı ile fonksiyonel moleküler aygıtlara dönüştürülecektir. Süpramoleküler bir tasarım, pek çok kez canlılar dünyasındaki örneklerden esinlenerek elde edilir. Bunlara örnek olarak, yapay enzimler, yapay fotosentez sistemleri, yapay biyoesinli motorlar düşünülebilir [1, 17].

Yukarıda belirtilen temel ve uygulamalı araştırma yöntemleri ve teknoloji politikaları hayata geçirildiğinde aşağıdaki ürünlerin geliştirilebileceği öngörülmektedir:

1. Çok işlevli nanokompozit malzemeler ;

Sensör, katalizör, yakıt hücreleri ve elektrotlar, polimerik nanokompozitler, yüksek kapasiteli veri depolama sistemleri için manyetik nanokompozitler; otomotiv, cam, ambalaj ve beyaz eşya sanayi için nano-kaplamalar, boyalar ve akıllı (smart) tekstil ürünleri.

2. Biyoesinli malzemeler ve katalizörler ;

Yapay enzimler, moleküler aygıtlar, yapay fotosentetik sistemler

3. Kendiliğinden düzenlenme (self-assembly) yöntemleri ile nano-elektronik ve nanomekanik aygıtlar [1].

Birkaç nanometre (bir tek tabaka) kalınlığındaki ince organik filmler; sensörler, dedektörler, göstergeler ve elektronik devre bileşenleri gibi bir çok ticari ve pratik uygulama alanı bulduğundan büyük ilgi görmektedir. Neredeyse sınırsız şartlarda istenilen yapı ve fonksiyonelliğe sahip organik moleküllerin sentezlenebilme olasılığı oldukça gelişmiş film biriktirme teknikleri ile birleştiğinde nanometre skalasında elektrik, optik ve biyolojik olarak aktif parçalar üretimi yapılabilmektedir. Katı bir substrat üzerine organik ince film biriktirmenin, kimyasal buhar biriktirme (chemical vapor

deposition, CVD), püskürtme (sputtering), moleküler ışın epitaksisi (molecular beam epitaxy), Langmuir-Blodgett tekniği ve kendiliğinden düzenlenme gibi birçok değişik yöntemi vardır [18, 19].

2.2. Kendiliğinden Düzenlenen Tek Tabakaların Oluşumu

Küçük moleküllerin doğrudan düzenlenmesi sonucu büyük moleküllerin meydana gelmesi (örneğin; protein sentezi) ya da substrat molekülleri üzerine atomların veya moleküllerin adsorpsiyonu, kendiliğinden düzenlenmeye dayanmaktadır. Bu işlemde, moleküller kendi aralarında etkileşimde bulunurlar. Zayıf ve tersinir olan bu etkileşimler belli bir denge kurulana kadar devam etmektedir [20].

Atom, iyon veya moleküllerin bir katı yüzeyinde tutunmasına *adsorpsiyon* tutunan taneciklerin yüzeyden ayrılmasına ise *desorpsiyon* denir.

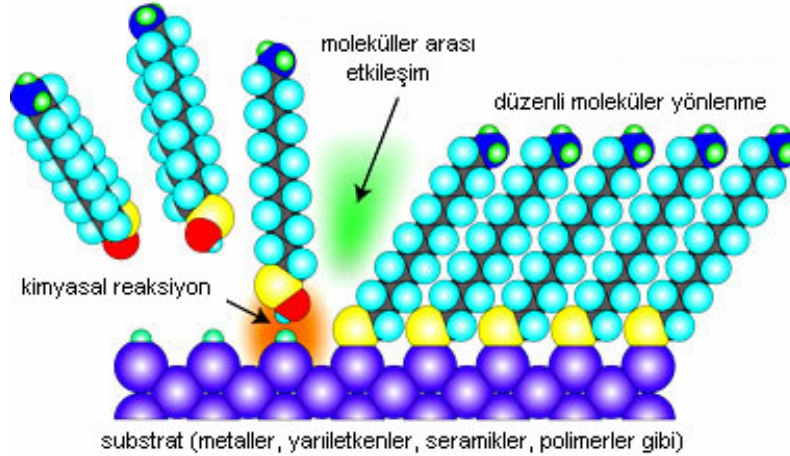
Adsorpsiyon, fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki şekilde gözlenir. Adsorpsiyon ısısı -20 kJmol^{-1} civarında olan etkileşimler sonundaki tutunmalara fiziksel adsorpsiyon, -200 kJmol^{-1} civarında olan etkileşimler sonundaki tutunmalara ise kimyasal adsorpsiyon denir. Fiziksel adsorpsiyon sırasında atom, molekül ya da iyon şeklinde olabilen adsorplanan tanecikler ile katı yüzeyi arasında uzun mesafeli fakat zayıf olan van der Waals çekim kuvvetleri etkindir. Kimyasal adsorpsiyon sırasında ise tanecikler ile yüzey arasında bir kimyasal bağ ve genellikle kovalent bağ oluşmaktadır [21].

SAM'ler, katı bir yüzey üzerine (metaller, inorganik substratlar gibi) aktif bir sürfaktantın fiziksel ya da kimyasal adsorpsiyonu ile oluşmuş düzenli moleküler bağlanmalara sahip nanoboyuttaki tasarımlardır [22].

Kendiliğinden düzenlenme işleminin avantajlarını ve prensiplerini en iyi tanımlayan model sistemler "kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar" dır [23]. Eski bir kendiliğinden düzenlenme yöntemi olan Langmuir-Blodgett tekniği, geçmişte optik kaplamalarda, biyosensörlerde, antikorlarda ve enzimlerde kullanılmıştır. Hava-su ara yüzeyinde oluşan bu tek tabakaya "*Langmuir-*

Blodgett film” denir. Bu filmlerin hazırlanışı oldukça zor olmasına rağmen farklı amaçlar için kullanılmakta ve tercih edilmektedir. Diğer yandan, metal yüzeyler üzerine hazırlanan kediliğinden düzenlenen tek tabakalar ise oldukça kararlı, kolay hazırlanabilen ve geniş kullanım alanlarına sahip malzemelerdir [23, 24].

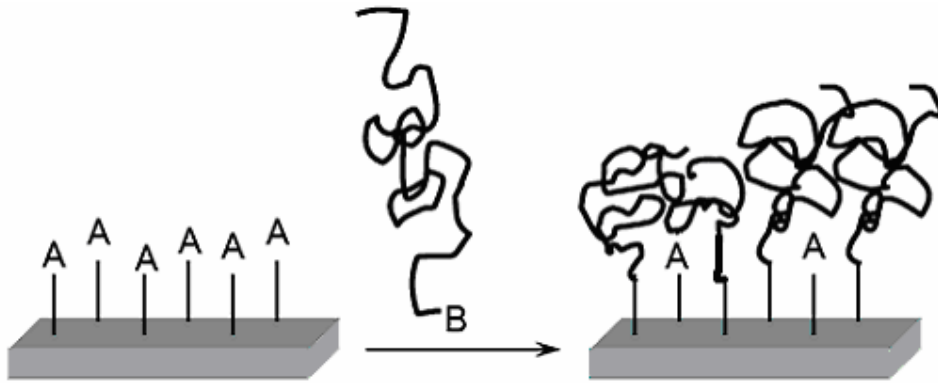
Kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar ve çoklu tabakalar Ag, Au, Cu, Ge, Pt, Si, GaAs, SiO₂ gibi yüzeylerle alkantiyoller (R-SH), disülfidler (R-S-S-R’), sülfidler (R-S-R’), siloksanlar (R-SiO-R₃’) ve asitler (R-COOH) gibi ligandlar veya moleküllerin bağlanması ile oluşurlar [25]. Şekil 2.1’de görüldüğü gibi substrat üzerindeki fonksiyonel uçlar ve yüzeye bağlanacak olan uzun zincirli moleküllerin fonksiyonel uçları arasında kimyasal reaksiyon ile bağlanma gerçekleşirken, bağlanacak moleküller de kendi aralarındaki van der Waals etkileşimleriyle düzenli bir şekilde yönlendirilir.



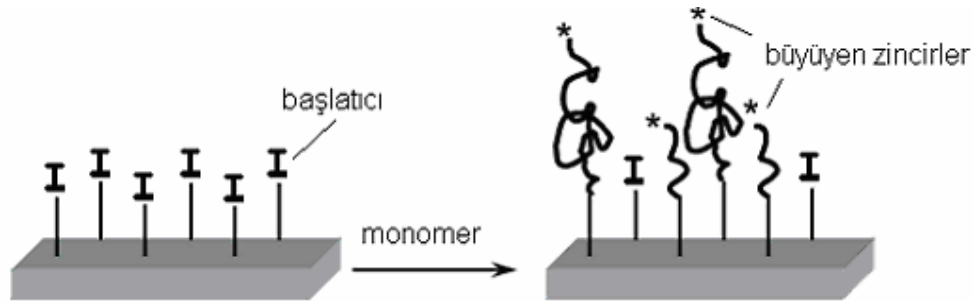
Şekil 2.1. SAM'lerin şematik gösterimi

Yüzeyde tasarlanacak molekül bir polimerse, genellikle iki yolla yüzeye bağlanır. Birinci yolda; polimer çözücüsünde çözülür ve hazırlanan çözeltide bekletilerek polimerin yüzeye bağlanması sağlanır. Bu yöntem *yüzeye aşılama (grafting to)* metodu adı verilir. Bu yapıların kararlılığı polimer zincirleri ve substrat aktif uçları arasındaki kovalent bağlanmadan

kaynaklanır. İkinci yolda ise; yüzeye başlatıcı bağlanır, monomer ilavesi ve polimerleşme için gerekli şartların sağlanması ile yüzeyde polimerleşme gerçekleştirilir. Bu yönetime ise *yüzeyde aşılama (grafting from)* metodu adı verilir. Yöntem bir çok polimerleşme tekniği ile gerçekleştirilebilir; anyonik, katyonik, yaşayan serbest radikal, kontrollü serbest radikal, atom transfer radikal polimerleşmesi (ATRP) ya da halka açılması polimerleşmesi gibi [26].



Şekil 2.2. Yüzeye aşılama yönteminin şematik gösterimi : Polimer uç grupları B ile yüzeydeki A uç gruplarının reaksiyonu



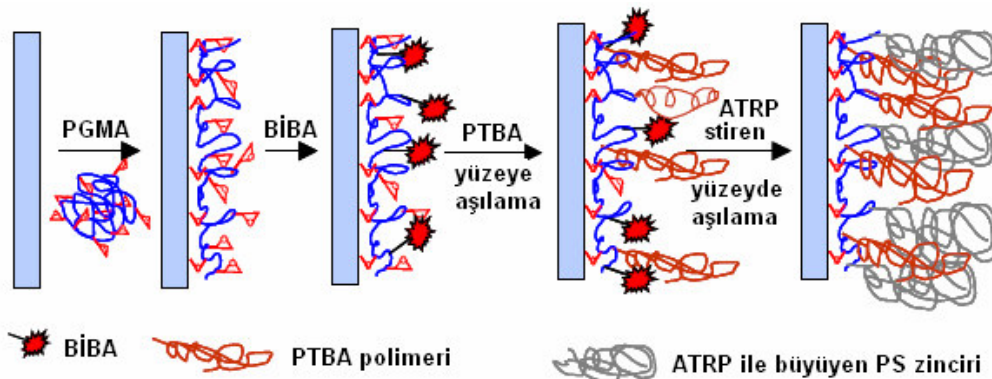
Şekil 2.3. Yüzeyde başlatılan polimerleşmenin şematik gösterimi : Başlatıcı bölgeleri bağlı yüzeyden monomer ilavesi ile polimer zincirlerinin büyümesi

Bialk ve arkadaşları, gerçekleştirdikleri bir çalışmada yüzeyde aşılama metodunu kullanarak radikal polimerleşme ile polimer fırçalar hazırlamışlardır. 3-metakriloilpropil trimetoksisilan monomerini silisyum yüzeylere bağlayıp azobis izobütironitril radikal başlatıcı ile yüzeyde

polimerleştirmişlerdir. Hazırlan yüzeylerin farklı başlatıcı derişimlerinde ve farklı polimerleşme sürelerinde elipsometre cihazı ile kalınlıkları ölçölüp karakterize edilmiştir [27].

Retsos ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada Si(100) yüzeylere, yüzeye aşılama metoduyla karboksil sonlu polistiren ve karboksil sonlu poli (2-vinil piridin) polimerleri farklı oranlarda kullanılarak karışık tabakalar hazırlanmış ve hazırlanan bu yüzeyler değme açısı cihazı ile karakterize edilmiştir [28].

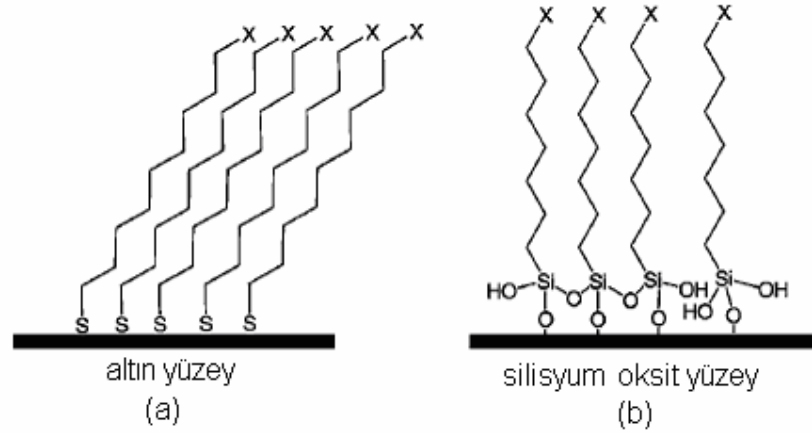
Klep ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada yüzeye aşılama ve yüzeyde aşılama metotlarının her ikisi de kullanılarak karışık tabakalar hazırlanmıştır. Bu amaçla, ilk olarak poli (glisidil metakriat) (PGMA) polimeri temizlenmiş Si(100) yüzeyine kaplanıp 2-bromoizobütirik asit (BİBA) bağlanmış ve böylece yüzeyde PGMA/BİBA makrobaşıatıcı elde edilmiştir. Daha sonra yüzeylere öncelikle poli (ter-bütillakrilat) (PTBA) polimeri yüzeye aşılama metoduyla bağlanmış, ardından ATRP ile stiren monomeri yüzeyde polimerleştirilmiştir. Yüzeye aşılama/yüzeyde aşılama ile hazırlanmış karışık yüzeyler Şekil 2.4'de şematik olarak gösterilmiştir. Elde edilen yüzeylerin karakterizasyonu elipsometre cihazı ile kalınlık ölçümleriyle belirlenmiştir. [29].



Şekil 2.4. Karışık polimer fırçaların hazırlanması

Literatürde kendiliğinden düzenlenen tekli ve çoklu tabakalar ile ilgili oldukça çok çalışma vardır. Bu çalışmalar genel olarak iki ana gruba ayrılmaktadır:

Altın yüzeyler üzerine alkantiyoller (R-SH), sülfidler (R-S-R') ve disülfidler (R-S-S-R') kullanılarak hazırlanan filmler ve silisyum yüzeyler üzerine organik moleküller (organosilanlar, alkoller, alkenler...) kullanılarak hazırlanan filmlerdir.



Şekil 2.5. SAM'ler a) altın üzerine alkantiyoller b) silisyum oksit üzerine alkan silanlar (X: fonksiyonel grup)

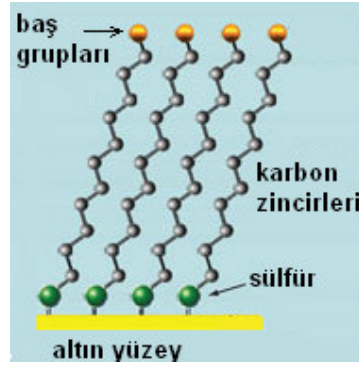
Yüzeğe bağlanan moleküllerin 11 -12 metilen grubu içermesi gerekir. Çünkü, 10'dan fazla metilen grubu içeren uzun zincirli alkantiyoller, metilen gruplar arasındaki van der Waals kuvvetlerinden dolayı yönlenecek düzgün tek tabakalar meydana getirirler. Zincir uzunluğundaki azalma düzenlenmiş yapıların azalmasına neden olur [30].

2.2.1. Altın üzerinde oluşturulan tek tabakalar

Altın yüzeyler üzerine iyi düzenlenmiş SAM'ler sülfür içeren (tiyol, sülfid ve disülfidler) maddeler kullanılarak kolaylıkla hazırlanabilir [30]. Altının en büyük avantajı diğer metallere karşı inert olması ve atmosferik kirlilik ile yükseltgenmeye karşı dirençli olmasıdır [31].

Yapılan çalışmalarda genellikle altın kaplı yüzeyler üzerine ilk tabakası en az 12 CH₂ grubu içeren alkantiyoller (R-SH), sülfidler (R-S-R') ve disülfidler (R-SS-R') olacak şekilde SAM tekniği kullanılmıştır [30]. Alkil zincirleri van

der Waals kuvvetlerinden dolayı bir araya gelip paketlenir ve tiyol baş gruplarıyla altın yüzeyine yerleşir.



Şekil 2.6. Altın yüzeyler üzerine tiyol grupları ile oluşturulmuş SAM

Altın üzerine disülfidler ya da alkantiyollerden oluşturulan SAM'ler Nuzzo ve Allara [32] tarafından keşfedilmiştir.

Altın üzerine alkantiyoller ile oluşturulan SAM'ler aşağıda belirtilen özelliklerden dolayı sıklıkla kullanılırlar;

- Disülfidlerden veya sülfidlerden çok daha iyi çözünürler,
- Altın yüzeyler üzerine kendiliğinden düzenlenme hızları, disülfidlerden 1000 kat daha fazladır,
- Birçok organik fonksiyonel gruplar ile uyumludurlar,
- Birçok tiyol ticari olarak elde edilebilmektedir,
- Farklı fonksiyonel gruplar içeren karışık tek tabakalar iki farklı tiyolün yüzey üzerine ko-adsorpsiyonu ile hazırlanabilirler [2].

Bununla birlikte altın yüzeyler üzerine SAM'lerin bazı dezavantajları vardır:

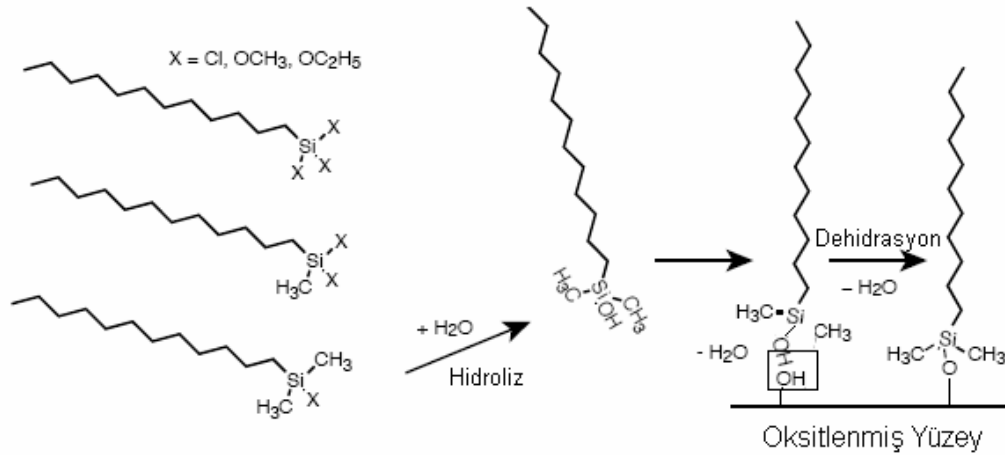
- Altın ve sülfür atomu arasında kimyasal bir bağlanma değil fiziksel bir adsorpsiyon söz konusudur. Bu nedenle; bu şekilde hazırlanan yüzeyler mekanik, kimyasal ve ısısal etkilere karşı dayanıklı değildir.

- Yüzeğe bağlanan 12 karbonlu alifatik grup zincir esnekliğine sahip olmadığından, daha sonra yüzeğe bağlanan biyomoleküller, yüksek mol kütlelerinden dolayı zincirde moleküller kırılmalarına neden olur.

Bu olumsuzluklar nedeniyle bu çalışmada, yüzeğe kovalent bağlanma ile yüzeyin mekanik, kimyasal ve ısıl dayanıklılığı sağlanırken, zincir esnekliğine sahip molekül katkılama ile biyomolekül bağlanmasına karşı esneklik sağlanmıştır.

2.2.2. Silisyum yüzeyler üzerinde oluşturulan tek tabakalar

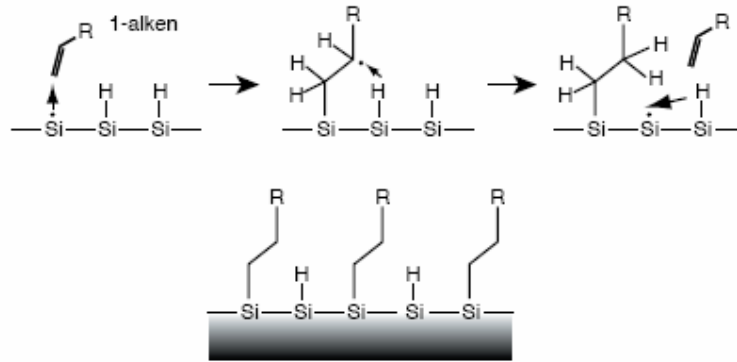
Silisyum yüzeyler üzerine; *organosilanlar* (genellikle, *alkiltriklorosilanlar*), *doymamış hidrokarbonlar* (*alkenler, alkinler*), *alkoller*, *aldehitler* gibi fonksiyonel uçlara sahip moleküller kullanılarak SAM'ler oluşturulabilir. Şekil 2.7'de oksitlenmiş silisyum yüzey üzerine organosilan moleküllerinin dehidrasyon yoluyla bağlanması gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Organosilan moleküllerinin, oksit yüzey üzerindeki hidroksil gruplarıyla tepkimesi sonucu SAM oluşumu

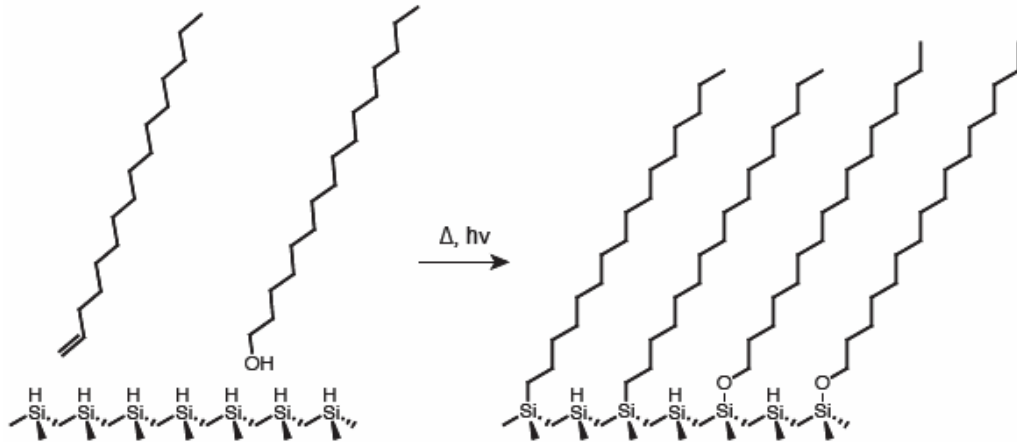
İnorganik yüzeyler üzerine organik tabakaların hazırlanmasında silan gruplarının tepkimesi oldukça çok kullanılmıştır [5, 11, 12, 14, 15, 33].

Hidrojen sonlu Si (Si-H) yüzeylerin, bazı organik moleküllerle (alkenler, aklınler, alkoller, aldehitler) kimyasal tepkimesi ile yüzeye kovalent bağlanma gerçekleştirilerek SAM'ler de hazırlanmıştır. Isısal aktivasyon [34, 35] ve fotoaktivasyon [36, 37] ile gerçekleştirilen bu yöntemler, radikalik tepkimeler üzerinden yürümektedir.



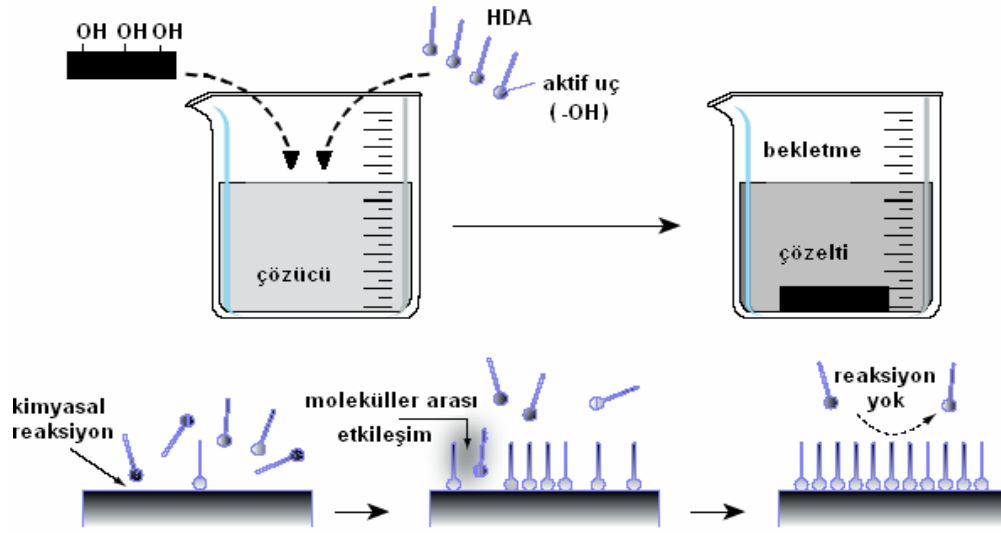
Şekil 2.8. Radikalik reaksiyonla Si-H yüzey üzerinden SAM oluşumu

Isısal aktivasyon 100 ° C' in üzerinde gerçekleştirilirken [34], fotoaktivasyon ultraviyole ışık ile [36, 37] gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.9. Isısal aktivasyon ve fotoaktivasyon ile SAM oluşumu

Bu çalışmada, ilk olarak Si(100) yüzeyler silanol gruplarına (SiOH) çevrildi, ardından organik molekül içeren (HDA) çözeltide bekletilerek dehidrasyon yoluyla ilk tabaka hazırlandı. Daha sonra polimer çözeltisinde (PDMS) bekletilerek SAM'ler hazırlandı: Yüzeğe aşılama tekniği. Bu teknikle hazırlama metodu Şekil 2.10'da gösterilmiştir.



Şekil 2.10. SAM'lerin hazırlanması

Çizelge 2.1. İnorganik substratlar üzerine kendiliğinden düzenlenme ile oluşan tekli tabakalar

TEK TABAKALAR			
YÜZEY	LİGAND	BAĞLANMA	KAYNAKLAR
Au	RSH, ArSH (tiyoller)	RS-Au	16, 8, 38, 39
	RSSR' (disülfidler)	RS-Au	32, 40
	RSR' (sülfidler)	RS-Au	41
SiO ₂ , Cam	RSiCl ₃ , RSiOR ₃ '	Siloksan ağ	42
Si	[RCOO] ₂	R-Si	43
	RCH=CH ₂	R-CH ₂ CH ₂ -Si	44
GaAs	RSH	RS-GaAs	45
Ag	RSH, ArSH	RS-Ag	45-48
Cu	RSH, ArSH	RS-Cu	49,50
Metal oksitler	RCOOH	RCO ₂ -...MO _n	50-52
	RCONHOH	RCONHOH...MO _n RCONHO-...MO _n	53
Pt	RSH, ArSH	RS-Pt	54, 55
	RNC	RNC-Pt	55

ÇOKLU TABAKALAR			
YÜZEY	LİGAND	BAĞLANMA	KAYNAKLAR
SiO _x , Au, Ge	RPO ₃ ⁻ , Zr ⁺	İyonik çoklu tabakalar	56, 57
Si/SiO ₂ , Au	Polielektrolitler, silikatlar	İyonik çoklu tabakalar	58
SiO ₂	HO-R-SiCl ₃	Siloksan ağ	59, 60
Au, Cu, Ag	RCOOH HS-(CH ₂) _n COOH	Metal-ligand çoklu tabakalar	-

Çizelge 2.2. Kendiliğinden düzenlenmiş tek tabakaların karakterizasyonunda kullanılan teknikler

TEKNİK	BİLGİ	KAYNAKLAR
Ganionometre	Yüzey serbest enerjisi	40, 52
Elipsometre	Tabakanın kalınlığı	61
X-ışını fotoelektron spektroskopisi	Kimyasal bileşim	41, 48
Yüzey raman saçılımı	Tek tabakanın yapısı	62, 63
Düşük enerjili helyum kırınımı	Tek tabakanın yapısı	46, 64
X-ışını kırınımı	Tek tabakanın yapısı	46
IR	Tek tabakanın yapısı	47, 48
Elektrokimyasal metotlar	Tek tabakanın elektriksel özellikleri	65
Tarama tünelleme mikroskobu	Tek tabakanın yapısı ve bileşimi	66

2.3. Kendiliğinden Düzenlenme ile Tasarlanmış Biyosensörler

Sensörler üç bölümden oluşur; tanıyıcı , çevirici ve elektronik bölüm. Tanıyıcı bölüm, tanıyan (ligand) ile tanınanın (analit) etkileştiği bölümdür. Çevirici, bu etkileşme sonucu oluşan değişimi (ısı değişimi, optik özelliklerdeki değişim veya kütle değişimi gibi) elektrik sinyaline çevirir. Elektronik bölüm ise oluşan elektrik sinyalini değerlendirir ve sinyali okunabilir verilere dönüştürür.

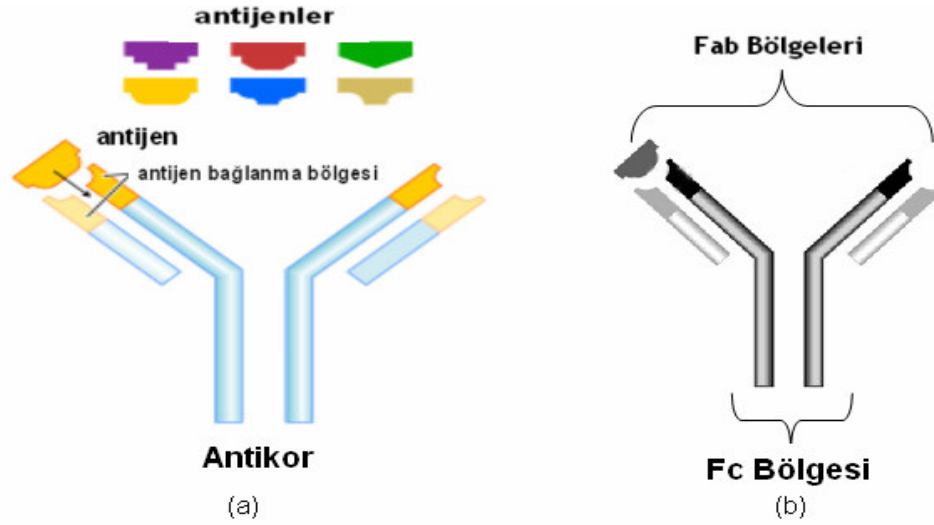
Tanıyıcı bölümde, immobilize edilmiş ligandlar (problar) bulunur. Bu ligandlar biyolojik materyal (örneğin; enzim, antikor/antijen, oligopeptit, mikroorganizma) olursa sensör *biyosensör* adını alır. [67]

Bu çalışmada, kendiliğinden düzenlenen tek tabaka yöntemi ile IgG molekülüne karşı seçici özellikte, silisyum yüzeyine kovalent bağlı polimer katkılı molekül tasarımı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bu yüzeyler biyosensör olarak biyolojik uygulamalarda alternatif oluşturabilir. Bu çalışmada ligand olarak bir antikor olan IgG kullanılmıştır. Bu nedenle tasarlanan yüzeyler *immunosensör* özellik göstermektedir.

Antikorlar, vücudun immün (bağışıklık) sisteminin bir parçası olan B lenfositler tarafından gereksinim duyulduğunda üretilen ve vücuda giren yabancı maddeyi (antijen) tanıyarak immün sistemini harekete geçiren protein molekülleridir.

Antikorlar;

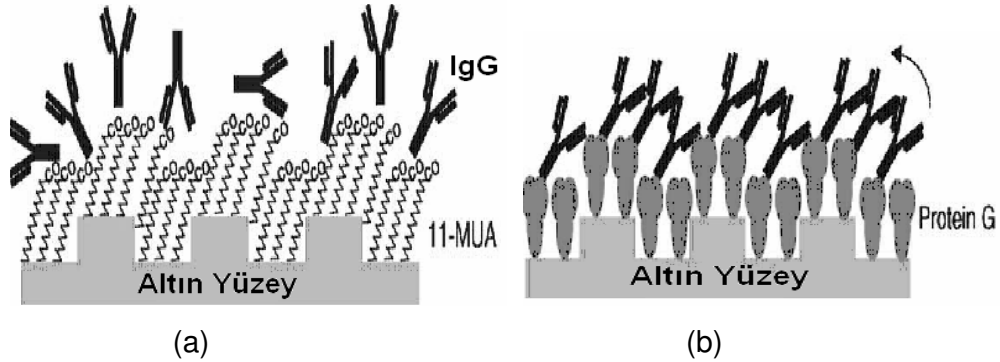
- Y şeklinde moleküllerdir.
- Tanıma kabiliyetine sahip bölüm Y'nin iki ucundaki spesifik antijen bağlanma bölgeleridir.



Şekil 2.11. Antikorların etkileşim bölgeleri: a) Antikor-antijen etkileşimi, b) Antikordaki F_{ab} ve F_c bölgeleri

Antikorlar iki F_{ab} kısmı (spesifik antijen bağlanma bölgesi) ve bir F_c kısmı (antikor etkileşim bölgesi) içerir. IgG kimyasal immobilizasyon sonucu yüzeyde düzensiz yönlendiğinde F_{ab} bölgeleri gizlenebilir ve bu durumda antikor-antijen bağlanması engellenir. Ayrıca IgG'nin rasgele yönlenmesi biyolojik aktivitenin kaybolmasına neden olur. IgG immobilize olduğunda F_{ab} bölgeleri yüzeyden ileriye doğru yönlendiği olmalıdır. Böylece antijen-antikor bağlanması kolayca gerçekleşir. Bu nedenle yönlendirilmiş immobilizasyon, bir immüno sensörün gelişiminde çok önemlidir [68].

Bae ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; 11-Merkaptoundekanoik asit (11-MUA) bağlı altın yüzeyler ve tiyollenmiş Protein G adsorbe edilmiş altın yüzeyler üzerine IgG immobilizasyonu araştırılmış ve Protein G tabakası üzerine IgG immobilizasyonu daha düzgün olarak gerçekleştirilmiştir [68]. Şekil 2.12'de görüldüğü gibi antikorlar antijen ile kolayca etkileşebilecek durumda yönlendirilmişlerdir.



Şekil 2.12. İki farklı tabaka üzerine IgG immobilizasyonu: a) Alifatik zincirli molekül (11-MUA) üzerine IgG immobilizasyonu : *karışık yönlendirme* b) Tiyollenmiş Protein-G molekülü üzerine IgG immobilizasyonu : *düzgün yönlendirme*

Vashist ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Protein A, Protein G ve nötravidin (biotinlenmiş IgG ile kullanılmış) molekülleri kullanılarak altın kaplı silisyum yüzey üzerinde immünosensörler hazırlanmış ve IgG immobilizasyonu incelenmiştir. En fazla immobilizasyonun Protein A ile hazırlanmış yüzeyler üzerinde gerçekleştiği gözlemlenmiştir [69].

Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda, IgG immobilizasyonundan önce yüzeylere Protein A molekülü bağlanmıştır. Protein A ve Protein G, bakteri hücre duvarı proteinlerinin rekombinant biçimleridir ve F_c antikor etkileşim bölgelerine sahiptirler [68].

Proteinlerin ve antikorların yönlendirilmiş immobilizasyonu, protein çiplerin ve immünosensörlerin hazırlanmasında çok önemli bir yere sahiptir. Proteinlerin kontrollü yönelmesinde biyotin ve streptavidin molekülleri arasındaki güçlü etkileşimler önemli rol oynar [70]. Streptavidin kaplı yüzeyler üzerine biyotinlenmiş biyomoleküllerin immobilizasyonu ile gerçekleştirilen çalışmalar biyomoleküllerin yönlendirilmiş immobilizasyonu için kullanılmıştır.

Jung ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada 2-(biotinamido) etantiyol ve merkaptohexanol ile altın yüzeyinde tasarlanan yüzeylere sırasıyla streptavidin, biyotinlenmiş Protein G ve antikolar (monoklonal ve poliklonal) immobilize edilmiştir. Elde edilen immünosensörler yüzey plazma rezonans ile karakterize edilmiştir [70].

Yam ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada sistamin kaplı altın yüzeylere N-süksinimit ile modifiye edilmiş biyotin bağlanmış ve hazırlanan bu yüzeylerin streptavidin molekülünü tanıması incelenmiştir [71].

Katsura ve çalışma arkadaşları ditiyobis(1-deoksi-glukitol-1-karbomil pentan) molekülünü altın yüzeyler üzerine adsorbe edip -OH sonlu tabakalar hazırlamışlar, daha sonra sırasıyla biyotinlenmiş fosfolipit, nötravidin, biyotinlenmiş Protein A ve IgG molekülünü adsorbe etmişlerdir [72].

Yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi IgG immobilizasyonu için, biyotin, streptavidin (nötravidin veya avidin türevi) ile Protein A biyomolekülleri kullanılmaktadır.

Biyotin ve streptavidin molekülüleri çok özel molekülüdür. Biyotin bir vitamindir. Streptavidin ise yumurta akında bulunan bir tür proteindir. Bu iki molekülün birbirleri ile etkileşimi oldukça önemli ve spesifiktir [73-76]. Streptavidin molekülünün yapısında, biyotin moleküllerinin bağlanması için 4 özel bölge bulunur. Bu özel etkileşim kullanılarak yüzeyler üzerinde akıllı biyolojik aktiviteye sahip tasarımlar yapılabilir.

3. YÜZEY KARAKTERİZASYON YÖNTEMLERİ

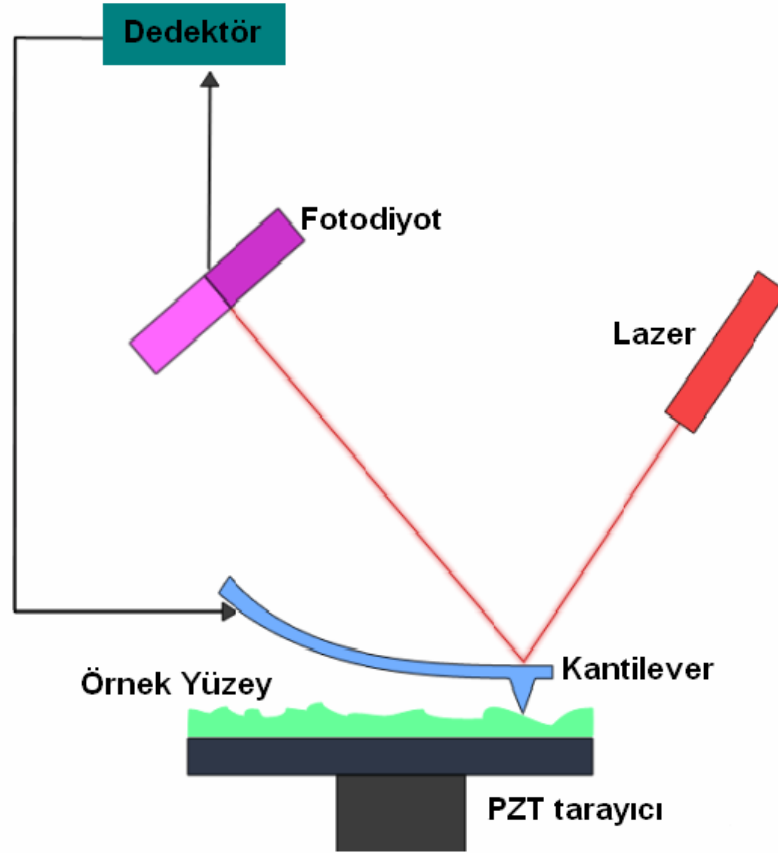
Yüzey özelliklerinin bilinmesi; polimerde, ambalaj maddelerinde, yarıiletken cihazlarda ve biyomalzemelerde önemlidir. Çünkü her malzemenin içinde bulunduğu veya kullanıldığı ortamda çevresi ile ilk temas ettiği yer, yüzeyi olmaktadır. Yüzeylerin içinde buldukları ortam da kullanılabilirliği için ilk temel koşuldur [77]. Hazırlanan yüzeyler hangi alanda uygulanacaksa o ortama uygun şekilde hazırlanmalıdır. Bu nedenle yüzey karakterizasyonu, yüzey özelliklerini ve uygulama alanlarını belirlemede önemli rol oynar.

3.1. Atomik Kuvvet Mikroskobu

Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) yüzey topografisini angstrom (\AA) mertebesinde 100 mikrona (μ) kadar görüntüleyebilen bir yeni kuşak mikroskoptur. Bu cihaz ile moleküllerarası nN boyutlarında kuvvetlerin ölçülmesi mümkün olmaktadır. Mikroskop olarak en önemli avantajı, özel bir hazırlama işlemi uygulamadan örneklerin doğrudan ve hemen hemen her ortamda görüntüleyebilmesidir [78].

Nanoteknolojinin en önemli elemanları arasında yer alan AFM, bir ön hazırlama aşaması olmadığı için biyolojik moleküllerin üç boyutlu yapısını bozmadan, buldukları ortamda görüntülenmesini sağlamaktadır. Bu özelliği alternatifleri olan SEM (taramalı elektron mikroskobu), TEM (geçirmeli elektron mikroskobu) gibi mikroskopik tekniklere önemli bir üstünlük elde etmesini sağlamıştır [79].

3.1.1. Atomik kuvvet mikroskobunun çalışma ilkesi



Şekil 3.1. Atomik kuvvet mikroskobu ve bölümleri

AFM, mekanik, elektronik ve yazılım olarak üç temel bölümde incelenebilir. AFM'nin mekanik kısımları; örneği x, y ve z yönlerinde atomik seviyede hareket ettirebilen piezomotor, kantilever, yüksekliğe göre esnemesinin ölçülmesi için kullanılan lazer kaynağı, iğnenin sabitlenmesini sağlayan iğne tutucu, ve kantileverden yansıyan lazer ışını pozisyonunun angström seviyesinde belirlenmesini sağlayan fotodetektördür. AFM'nin elektronik kısımları ise; bilgisayar kontrollü güç kaynağı, lazer güç kaynağı ve iki fotodetektöre gelen lazer ışınının yaratacağı sinyal farkının ölçülmesi için bir diferansiyel akım voltaj çeviricisidir.

AFM'de, iğne koluna tutturulmuş iğne örnek üzerinde hareket ederken, iğne ile örnek arasındaki itme ve çekme kuvvetleri ölçülür. Lazer kaynağından gelip iğne kolundan yansıyan ışın, pozisyona duyarlı fotodetektöre gelir. İki fotodiyotun sinyali arasındaki fark, lazer spotunun pozisyonunu belirler. Bu yükseklik bilgisi, bilgisayara gönderilip x ve y pozisyonuna karşı kaydedilir. Elde edilen veri kullanılarak üç boyutlu topografik görünüm elde edilir.

AFM iki modda çalışabilir: *Temaslı sistemde (contact mode)*, iğne kolunun ucundaki iğne ile yüzey arasında hafif bir fiziksel dokunma vardır. *Temasız sistemde (tapping mode)* ise iğne kolu kendi rezonans frekansında titreştirilir. Bu titreşim, fotodetektör tarafından ölçülür. Bu durumda iğne ve örnek arasındaki etkileşim faz kayması yaratır. Bu faz kaymasından yararlanılarak etkin kuvvetlerin şiddeti ölçülür [80].

3.1.2. Atomik kuvvet mikroskobunun kullanım alanları

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM), özellikle gıda, çevre ve tıp teknolojileri başta olmak üzere elektronik, telekomünikasyon, biyomedikal, kimyasal, otomotiv, uzay, havacılık ve enerji gibi alanları etkileyen geniş bir teknoloji aralığında proses ve malzeme problemlerini çözmek amacıyla kullanılmaktadır. İncelenen malzemeler, ince ve kalın film kaplamaları, seramikler, alaşımlar, camlar, sentetik ve biyolojik membranlar, metaller, polimerler ve yarı iletkenleri içermektedir. AFM ile, aşınma, yapışma, temizleme, çürüme, kapiler davranış, pürüzlendirme, sürtünme, kayganlaştırma, kaplama ve cilalama gibi işlemlerinin materyal üzerindeki sonuçları da incelenebilmektedir [79].

AFM sisteminin özellikle biyolojik moleküller arasında etkileşim kuvvetlerinin ölçülmesinde kullanımı ile ilgili literatürde oldukça fazla çalışma vardır [80-82]. Bu uygulamalarda biyolojik moleküller (örneğin antikorlar) AFM iğnesine ve eşleniği moleküller ise katı örnek yüzeyine kimyasal olarak bağlanmakta ve böylece ikisi arasında çekim kuvvetleri ölçülebilmektedir. Anlatılan bu

özelliklere dayanarak son yıllarda yapılan çalışmalarda AFM'nin biyosensör olarak kullanımı gündeme gelmiştir. Bu amaçla albumin ve eşleniği antikor arasındaki etkileşim, streptavidin-biotin etkileşimi [83,84], gibi örneği verilebilecek pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir.

3.2. Elipsometre

Günümüzde yüzey incelemeleri ve soğurucu yada soğurucu olmayan destekler üzerindeki filmlerin polarimetrik yöntemle incelenmesinde elipsometri yöntemi gittikçe artan bir oranda kullanılmaktadır [85,86]. Elipsometre eliptik kutuplanmış ışığın ölçümü ve analizine dayalı deneysel bir tekniktir. Yansıma polarimetresi veya polarimetrik spektroskopi gibi adlarla da tanımlanan elipsometri ışığın kutuplanma durumu üzerinde yansıma etkisinin ölçümüdür [87]. Elde edilen ölçümler malzemenin optik özellikleri hakkında bilgi verir.

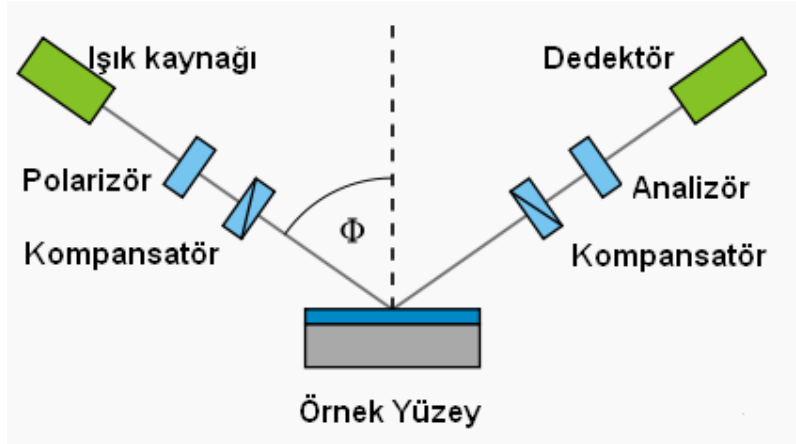
Spektroskopik elipsometri (SE) yöntemi bir elektromagnetik dalganın iki farklı ortamı ayıran arayüzeyden yansıması durumunda kutuplanma halindeki değişimi ölçer. Optik özelliklerin tayini genelde iki veya üç fazlı modellere dayalı olarak gerçekleştirilir. Boşluk ve malzemedan oluşan iki fazlı basit bir ortamda yüzey etkileri ihmal edildiğinde homojen malzemenin hacimsel (bulk) dielektrik fonksiyonu oldukça basittir ve aşağıdaki formülle ifade edilir [88].

$$\hat{\epsilon} = \sin^2 \phi \left[1 + \tan^2 \phi \left(\frac{1 - \rho}{1 + \rho} \right)^2 \right] \quad (3.1)$$

Burada ρ yukarıda belirtilen ışığın ara yüzeyde yansımasıyla kutuplanma durumunda oluşan değişmeyi temsil eden temel bir parametredir. ϕ ise ışığın yüzeye gelme açısıdır. Ancak bir ince filmin söz konusu olduğu üç fazlı modelde dielektrik fonksiyonu bu basit ifadeyle temsil etmek artık mümkün değildir. Sadece hava-film-alt tabakadan oluşan yapılar için değil, temelde iki

fazlı olsa bile yüzey kusurları, bozunmalar ve kirlenmeler içeren yapılar içinde söz konusu ifade (iki fazlı model) geçerliliğini yitirmeye başlar [88-90].

3.2.1. Elipsometrenin çalışma ilkesi



Şekil 3.2. Elipsometre ve bölümleri

Sistemin temelinde ışık kaynağından çıkan kutupsuz ışık ilk önce bir çizgisel kutuplayıcıdan (polarizör) geçirilerek çizgisel kutuplanmış, daha sonra bir çeyrek dalga geciktiricisinden (kompansatör) geçirilerek eliptik kutuplanmıştır. Numune üzerine gelen eliptik kutuplu ışık daha sonra yine bir çizgisel kutuplayıcıdan geçirilerek analizör üzerinden dedektöre düşürülür. Buradaki kutuplayıcının optik geçirgenlik eksenini ile ışığın gelme düzlemi arasındaki açı bir prizma yardımı ile hassas bir şekilde ayarlanabilir [90].

3.2.2. Elipsometrenin kullanım alanları

Elipsometrenin önemli bir üstünlüğü özellikle ince film yapılarının büyütülmesi esnasında yüzey kalitesinin, film kalınlığının ve dielektrik özelliklerinin eş zamanlı olarak kontrol edilmesine olanak sağlamasıdır. Çünkü elipsometrik ölçümler çok hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilir.

SE yönteminin önemli bir kullanım alanı da çok ince kalınlıktaki yapıların dielektrik fonksiyonlarının tam tayin edilmesidir. Bu yöntem yardımıyla birkaç atomik tabaka kalınlığındaki yarı iletken filmlerin bile gerçek dielektrik fonksiyonları hasas biçimde belirlenebilmektedir. Özellikle en küçük kareler regresyon analizi ile birleştirildiğinde SE yöntemi;

- Çok tabakalı yapıların kalınlık profili,
- Her bir tabakanın kalınlığı,
- Her tabakadaki kristal derecesi,
- Muhtemel bir üst kirlenme tabakasının kalınlık ve özellikleri,
- Yüzeyin mikro yapıdaki pürüzlü tabakasının kalınlığı,

hakkında önemli bilgiler sağlayabilmektedir [88,89].

4. DENEYSEL KISIM

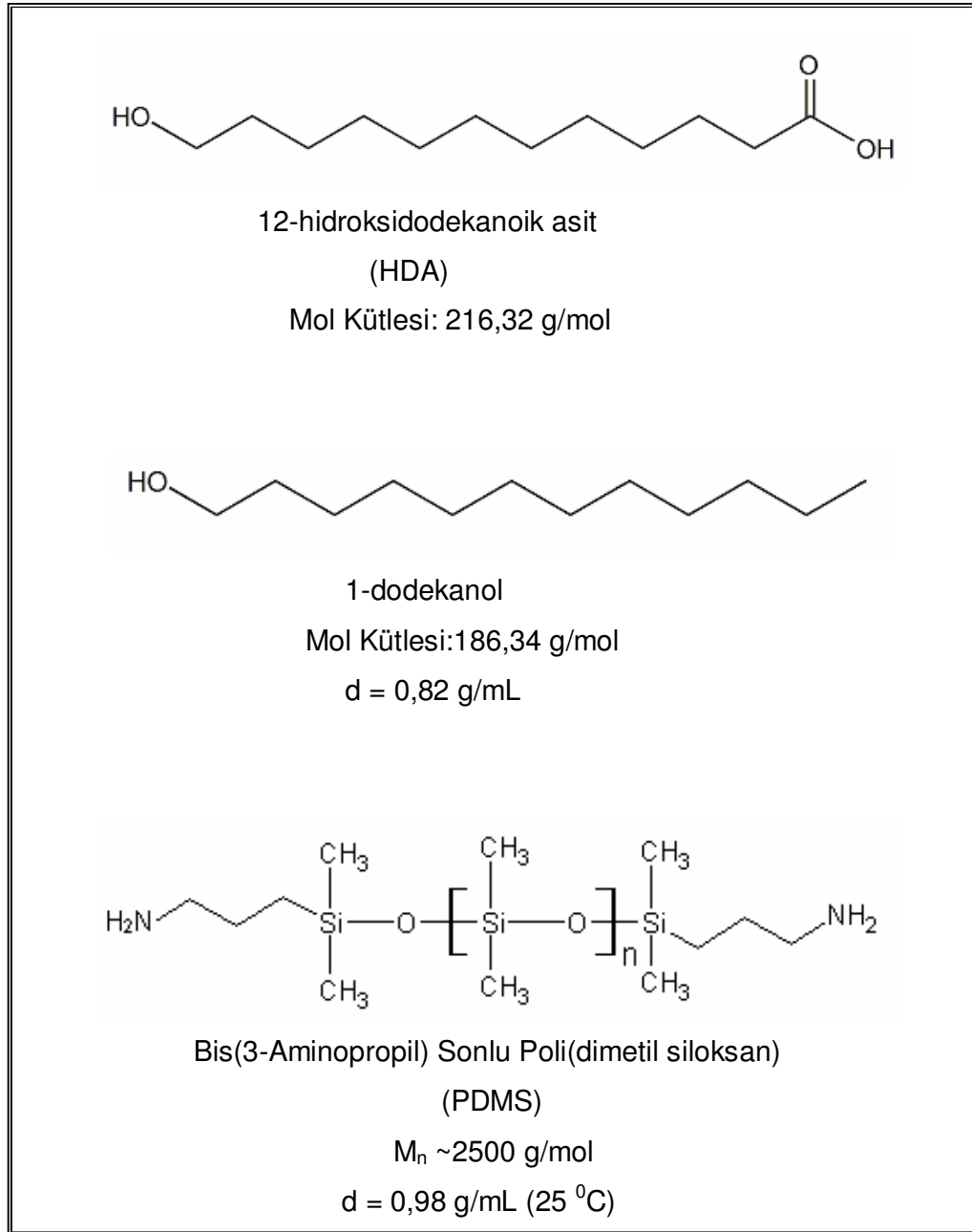
4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

4.1.1. Silisyum yüzeylerin temizlenmesinde ve hidrosillenmiş yüzeylerin hazırlanmasında kullanılan maddelerin yapı ve özellikleri

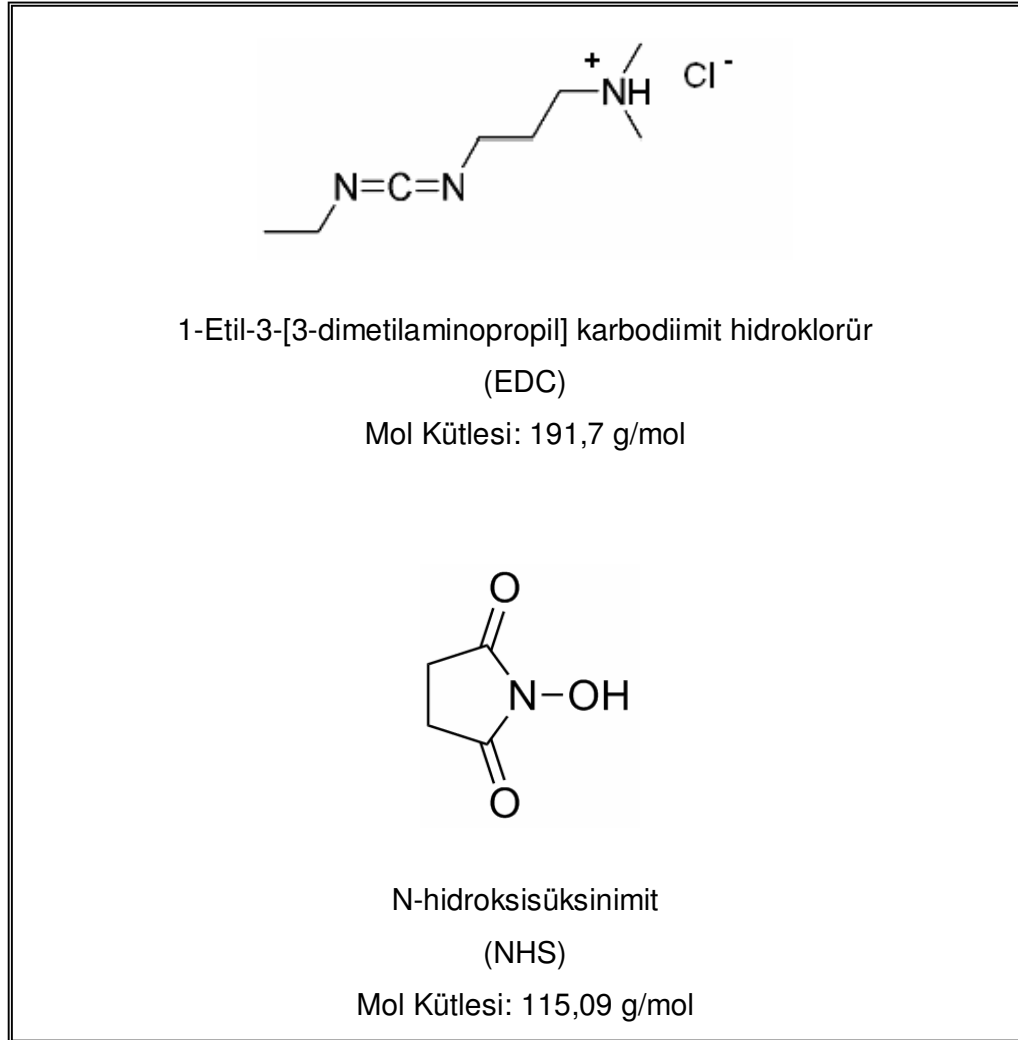
Bu çalışmada katı substrat olarak silisyum dioksit yüzeyler kullanılmıştır. Bu yüzeyler (100) yönelmesinde düzenlenmiş, çapları 100 mm, dirençleri 10-30 Ω -cm ve kalınlıkları 500-550 μ m olan yüzeylerdir. Bu yüzeylerin üst kısmı parlatılmış arka yüzü ise aşındırılmış durumdadır. Reaksiyonlar parlak yüzey üzerinden gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilecek kendiliğinden düzenleme işlemleri için öncelikle kullanılacak silisyum dioksit yüzeylerin temizlenmesi ve hidrosillenmiş yüzeylerin hazırlanması gerekmektedir. Yüzeylerin temizlenmesi için Riedel-de Haen firmasından temin edilen mutlak etil alkol [C₂H₅OH] kullanılmıştır.

4.1.2. Silisyum yüzeyler üzerinde oluşturulan tekli tabakaların hazırlanmasında kullanılan maddelerin yapı ve özellikleri

Yüzeylerin modifikasyonunda Sigma-Aldrich firmasından alınan 12-hidroksidodekanoikasit (HDA), 1-dodekanol, hidrobromik asit (HBr), bis(3-aminopropil) sonlu poli(dimetil siloksan) (PDMS), 1-Etil-3-[3-dimetilaminopropil] karbodiimit hidroklorür (EDC) ve N-hidroksisüksinimit (NHS) kullanılmıştır.



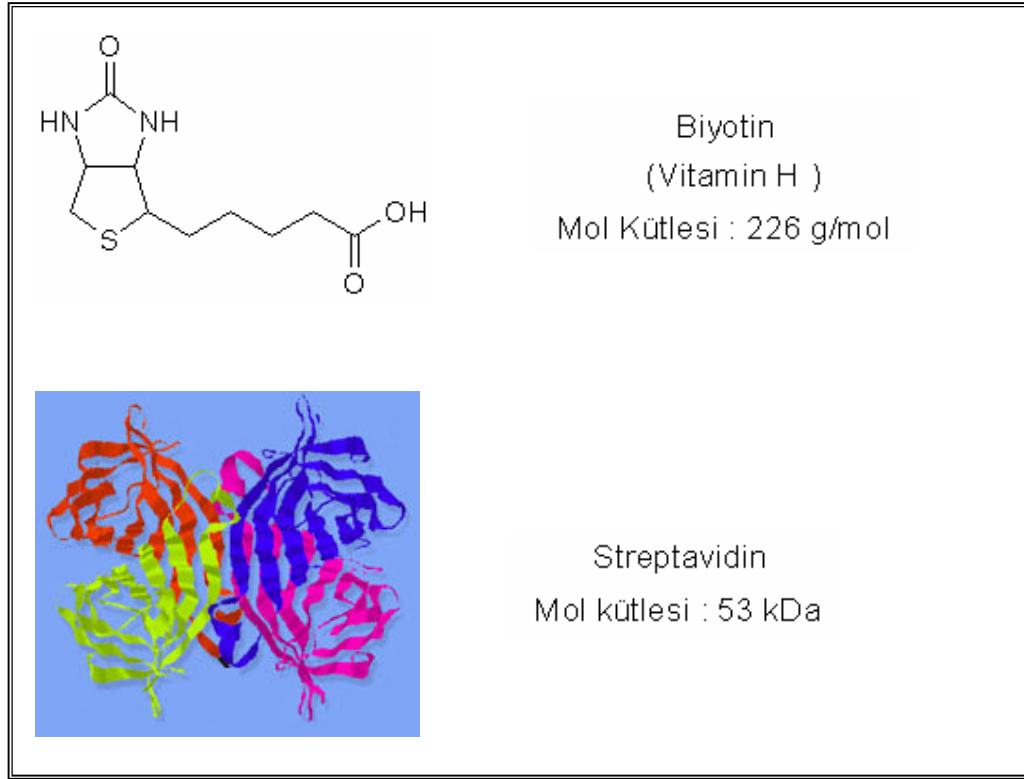
Şekil 4.1. HDA, 1-dodekanol, PDMS, EDC, NHS, NBS 'nin moleküler yapıları



Şekil 4.1. (Devam) HDA, 1-dodekanol, PDMS, EDC, NHS, NBS 'nin moleküler yapıları

4.1.3. Hazırlanan yüzeylerin antijen-antikor bağlanma özelliklerinin incelenmesinde kullanılan maddelerin yapı ve özellikleri

Temizlenmiş ve aktifleştirilmiş yüzeylerin antijen-antikor bağlama özellikleri için Sigma firmasından temin edilen, Biotin, Streptavidin, Biotinlenmiş Protein A, EDC, NHS, immünoglobulin G-FITC (flüoresan izotiyosiyanat) kullanılmıştır.



Şekil 4.2. Biotin ve Streptavidin moleküllerinin yapıları

4.2. Yüzeylerin Temizlenmesi

1x1 cm olacak şekilde kesilen silisyum dioksit yüzeyler ultrasonik banyoda 50°C'da mutlak etanol ile 15 dakika yıkanmış ve azot gazı ile kurutulmuştur. Kurutulmuş yüzeyler UV/O₃ cihazında 15 dakika bekletilerek silisyum dioksit yüzeyler silanol gruplarına dönüştürülmüş (hidroksillenmiş yüzeyler elde edilmiş) ve aktifleştirilmiştir.

4.3. Temizlenmiş ve Aktifleştirilmiş Yüzeyle Organik Moleküllerin Bağlanması

4.3.1. Bis(3-aminopropil) sonlu poli(dimetil siloksan) bağlı yüzeylerin hazırlanması

Hidroksillenmiş yüzeyler derişik HBr çözeltisinde 50°C'da 1 saat bekletilerek yüzeyler bromlanmıştır. İşlem sonunda yüzeyler deiyonize su ve daha sonra mutlak etanol ile yıkanarak azot gazı ile kurutulmuştur. Bromlanmış yüzeyler; 21,6 mg (0,1 mmol) HDA ve 0,23 mL(1 mmol) dodekanol (1:10, HDA:Dodekanol) içeren 5 mL etanol çözeltisinde 50 °C'da 4 saat bekletilmiştir. İşlem sonunda yüzeyler mutlak etanol ile birkaç kez yıkanmıştır.

HDA bağlı yüzeyler amitleştirme reaksiyonu için EDC/NHS (5:3) ile aktifleştirilmiş ve yüzeylere polimer (PDMS) bağlanmıştır. Bu amaçla ilk olarak yüzeyler, 47,9 mg (0,05 mmol) EDC ve 17,3 (0,03 mmol) mg NHS içeren 5 mL deiyonize suda 1 saat bekletilmiş ve aktifleştirilmiş bu yüzeyler 0,26 mL(0,1 mmol) PDMS içeren 5 mL diklorometan (CH₂Cl₂) içerisinde 2 saat bekletilmiştir. PDMS bağlı yüzeyler diklorometan ile birkaç kez yıkanmış ve azot gazı ile kurutulmuştur. Bu işlemler sonunda amin uç gruplu tabakalar elde edilmiştir.

4.3.2. Bis(3-aminopropil) sonlu poli(dimetil siloksan) ile aktifleştirilmiş yüzeylere biyomolekül bağlanması

PDMS molekülü ile aktifleştirilmiş yüzeyler üzerine sırasıyla biyotin, streptavidin, biyotinlenmiş Protein A ve flüoresans etiketli IgG bağlanmıştır. Bu aşamaların her biri için ayrı yüzeyler hazırlanmış ve her bir aşama için AFM ve elipsometre analizler yapılmıştır. Ayrıca IgG bağlı yüzeylerin flüoresans mikroskopunda desenleri incelenmiştir.

Bu amaçla ilk olarak 33,6 g biyotin, 47,9 mg EDC+17,3 mg NHS içeren 10 mL borik asit tamponunda (Britton Robinson, BRT) (pH=7,5) 1 saat bekletilmiş ve aktiveştirilmiştir. Hazırlanan bu çözeltide, PDMS bağlı yüzeyler +4 °C'da karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda kimyasal olarak bağlanmadan kalan moleküller BRT ile yıkanarak ortamdan uzaklaştırılmıştır.

Streptavidin bağlanması için, biyotin bağlanmış yüzeyler streptavidin çözeltisinde (0,5 mL streptavidin + 20 mL BRT) + 4°C'da karanlıkta 1 saat bekletilmiş ve yüzeyler BRT ile yıkanmıştır. Ardından yüzeyler, biyotillenmiş Protein A çözeltisinde (2 mg Protein A + 20 mL BRT) karanlıkta +4°C'da 5 saat bekletilmiştir. Yüzeyler daha sonra 1 mg/mL IgG içeren BRT içerisinde 24 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda yüzeyler karanlıkta BRT ile yıkanmış ve azot gazı ile kurutularak yine karanlıkta muhafaza edilmiştir. Yüzeylerin desenleri flüoresans etiketli IgG kullanılarak *Flüoresans mikroskobu* ile belirlenmiştir.

4.4. Yüzeylerin Kimyasal ve Biyokimyasal Karakterizasyonu

4.4.1. ATR-FTIR spektroskopisi

Thermo Nicolet 7600 marka ATR-FTIR spektroskopisi ile iki aşamada spektrum alınmıştır. İlk aşamada işlem görmemiş Si yüzey, HDA sonlu ve PDMS sonlu yüzeyin ATR-FTIR spektrumları alınmış ve ikinci aşamada ise PDMS bağlı yüzeyler, sıcaklık duyarlılığının belirlenmesi için 20, 50, 70, 90, 110, 125 ve 150 °C'da 30'ar dakika etüvde su buharı altında bekletilerek her bir sıcaklık için ATR-FTIR spektrumları alınmıştır.

4.4.2. Elipsometre

Si(100) yüzeylere bağlanan organik moleküllerin (HDA ve PDMS) ve biyomoleküllerin *kalınlık artışı*, Nanofilm EP3 marka spektroskopik elipsometre ile belirlenmiştir.

4.4.3. Atomik kuvvet mikroskobu

Si(100) yüzeylere bağlanan organik moleküllerin ve biyomoleküllerin üç boyutlu yüzey morfolojileri ise Nanosurf Easy Scan 2 sistemi kullanılarak belirlenmiştir.

4.4.4. Su değme açısı ölçümleri

Değme açısı ölçümleri flaş kamera aksesuarlı Krüss DSA-100 marka otomatik ganiometre ile yapılmıştır. Çalışmada temiz, hidrosillenmiş, bromlanmış, HDA bağlı ve PDMS bağlı yüzeyler üzerine 10 µL hacminde triplet saf su damlatılarak su değme açıları belirlenmiş ve fotoğrafları alınmıştır.

İkinci aşamada HDA bağlı ve PDMS bağlı yüzeylerin Histerizi (H) ölçümlerine (dinamik değme açısı ölçümleri) bakılarak yüzey pürüzlülükleri belirlendi.

Ayrıca PDMS bağlı yüzeyler, sıcaklık duyarlılığının belirlenmesi için (hidrofobik veya hidrofilik karakterinin belirlenmesi) 20, 50, 70, 90, 110, 125 ve 150 °C'da 30'ar dakika etüvde su buharı altında bekletilerek her bir sıcaklık için su değme açıları belirlenmiş ve fotoğrafları alınmıştır.

4.4.5. Flüoresans mikroskobu

Hazırlanan yüzeylerin desenleri flüoresans etiketli IgG kullanılarak Olympus BX51 marka flüoresans mikroskobu ile belirlenmiştir. Ölçümler 40 büyütme ve 100 büyütme ile FITC filtresi kullanılarak karanlıkta alınmıştır.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1. HDA ve PDMS ile Hazırlanan Yüzey Tasarımı

Amino uç gruplu SAM'ler, enzimlerin [91], DNA'nın [92] ve inorganik nanoparçacıklarının immobilizasyonu gibi biyoteknolojik uygulamalarda sıklıkla kullanılmıştır.

Yam ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada altın üzerinde sistamin dihidroklorür (CA), sistamin (CE), 2-merkaptolanol ve 3-merkaptopropiyonik asit molekülleri ile farklı fonksiyonel gruplar içeren tabakalar hazırlanmış ve hazırlanan bu yüzeylere N-süksinimit ester ile modifiye edilmiş biyotin molekülü bağlanmıştır. Böylece avidin molekülünü moleküler olarak tanıyabilecek yüzeyler tasarlanmıştır. Tasarlanan bu tabakaların karakterizasyonu FTIR spektroskopisi ve XPS ile belirlenmiştir. CA ve CE ile hazırlanan amin sonlu yüzeylerin her ikisinin de biyotin molekülünün bağlanması için daha fazla spesifik bağlanma gösterdiği görülmüştür [93].

Bu çalışmada amin fonksiyonel uçlara sahip PDMS molekülü kullanıldığı için biyotin bağlanmasında spesifikite gösterebileceği söylenebilir. Ayrıca PDMS molekülünün, biyoyumlu, kimyasal olarak inert, yüksek molekül esnekliği ve gaz geçirgenliği gibi karakteristik özelliklere sahip oluşu üretimini ve kullanımını yaygın hale getirmiştir [94-96]. PDMS molekülünün biyoyumluluğu, kan testlerinde bozucu etki göstermemesi, organizma içinde (in vivo) veya organizma dışında (in vitro) organ, doku, hücre, protein ve biyomoleküllerle kullanılabilmesi ile açıklanabilir [97].

PDMS molekülü literatürde çeşitli şekillerde kullanılmıştır. Film halinde [98], dönel kaplama (spin-coating) tekniği [99] ve litografik teknikler kullanılarak mikrodeseleme [100,101] ile yüzeylere kaplanılarak kullanılmakta olup

silisyum yüzeyler üzerinde kovalent bağlanma ile hazırlanmış PDMS çipler bulunmamaktadır.

Xia ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada gözenekli silisyum substrat üzerine vinil-PDMS molekülü aşılama yöntemi ile kaplanmış ve oluşan ince katı filmlerin yüzey modifikasyonu, değme açısı cihazı, fotolüminesans, FTIR ve interferometrik yansıma spektroskopisi ile incelenmiştir [102].

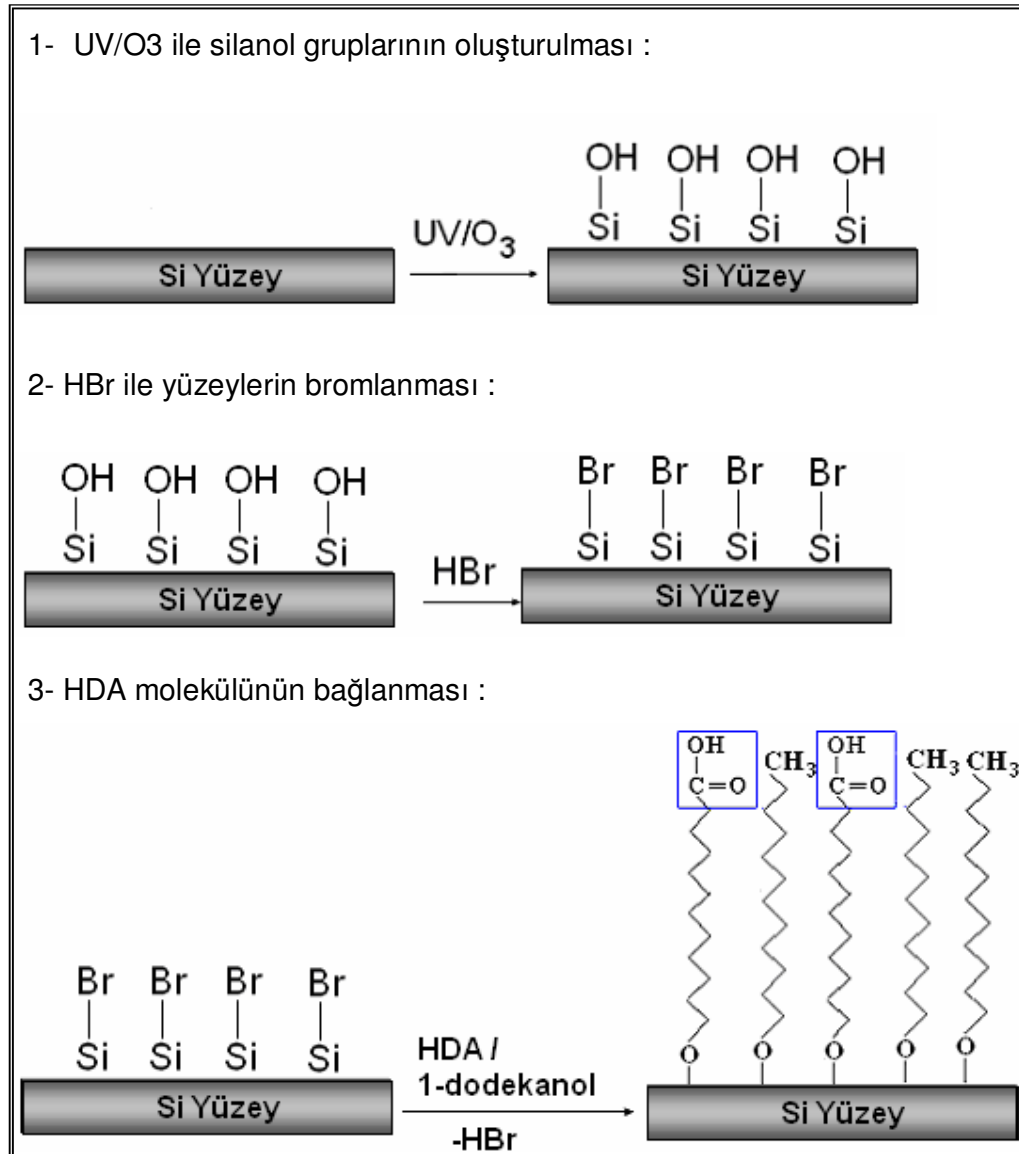
Landherr ve arkadaşlarınca gerçekleştirilen bir çalışmada vinil sonlu PDMS molekülü Si(100) yüzeyine dönel kaplama metodu ile kaplanmış ve oluşturulan mikrofilmlerin karakterizasyonu elipsometre ve AFM ile belirlenmiştir [103].

Wu ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada PS-b-PDMS kopolimeri silisyum substrat üzerine dönel kaplama yöntemi ile kaplanmıştır. Elde edilen filmler, geçirmeli elektron mikroskobu, AFM ve değme açısı cihazı ile karakterize edilmiştir [104].

PDMS ile gerçekleştirilen diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada PDMS molekülü kendiliğinden düzenleme yöntemi ile yüzeylere kovalent bağlanma ile kullanılmıştır. Ayrıca PDMS molekülünün esnek bir polimer oluşu ve biyomolekül bağlanmasında olası moleküler kırılmalara karşı dayanıklılığı tasarlanan yüzeyleri kendiliğinden düzenlenme alanında gerçekleştirilmiş diğer çalışmalardan ayırmaktadır.

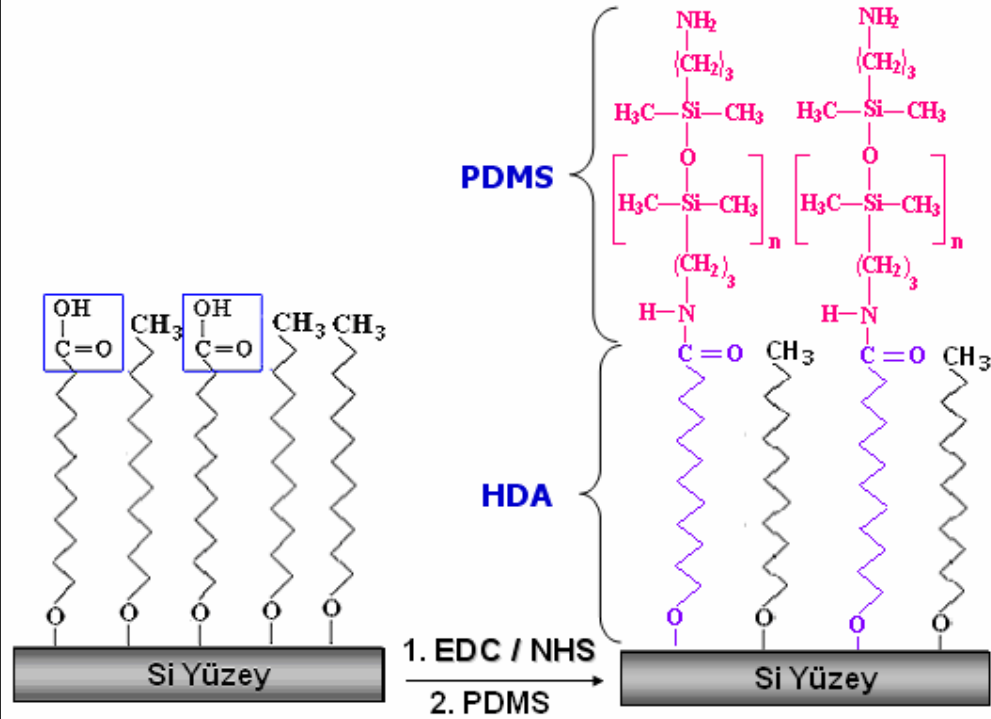
Bu çalışmada, sırasıyla HDA, amin sonlu PDMS , biyotin, streptavidin ve Protein A ile tasarlanan Si(100) yüzeyler, biyokimyasal malzemelere karşı duyarlılıklarından dolayı hastalıkların erken teşhisinde kullanılabilecek, protein ya da DNA çip çalışmaları için alternatif oluşturacaklardır.

Bu çalışmada gerçekleştirilen yüzey tasarımları Şekil 5.1' de şematik olarak gösterilmiştir.

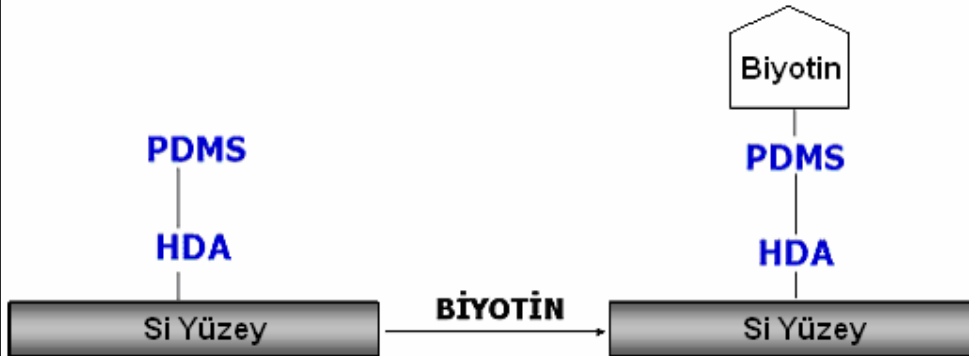


Şekil 5.1. HDA ve PDMS molekülleri ile Si (100) yüzeyler üzerinde gerçekleştirilen yüzey tasarımı

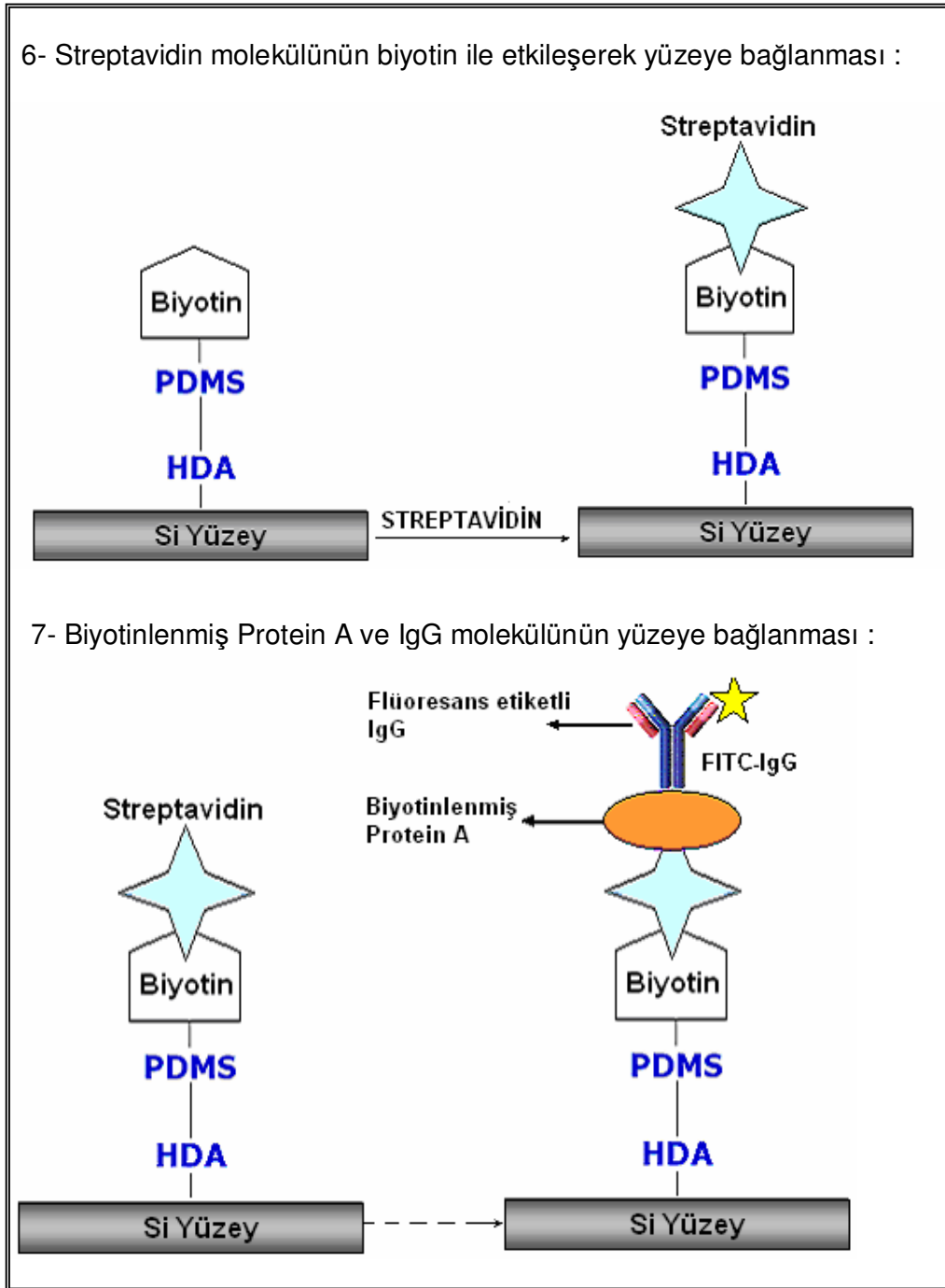
4- PDMS molekülünün bağlanması ile amin sonlu tek tabakaların oluşturulması :



5- Amin sonlu yüzeylere biyotin molekülünün bağlanması :

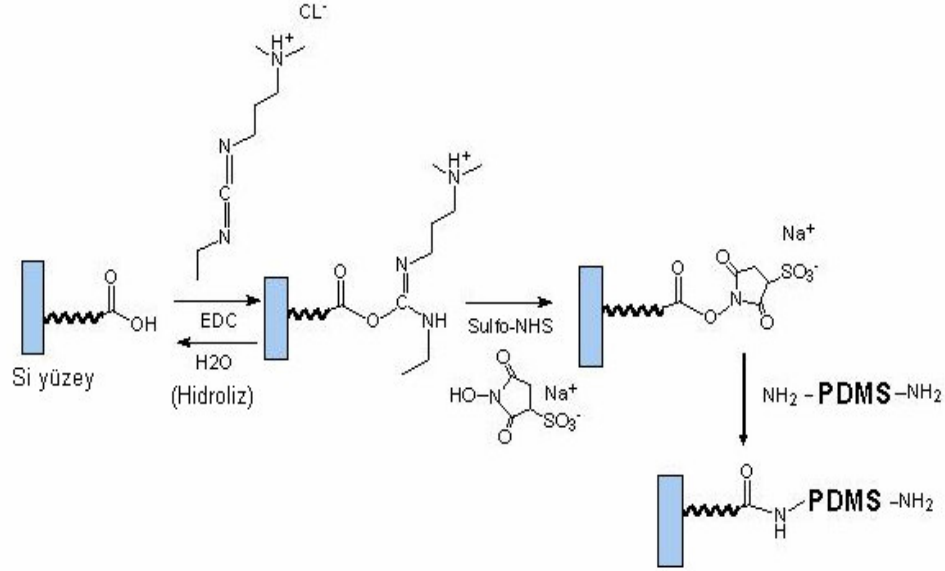


Şekil 5.1. (Devam) HDA ve PDMS molekülleri ile Si (100) yüzeyler üzerinde gerçekleştirilen yüzey tasarımı



Şekil 5.1. (Devam) HDA ve PDMS molekülleri ile Si (100) yüzeyler üzerinde gerçekleştirilen yüzey tasarımı

HDA bağı yüzeylerin EDC ve NHS molekülleri ile aktive edilmesi ve PDMS molekülünün bağlanması Şekil 5.2'de mekanizması ile gösterilmiştir.

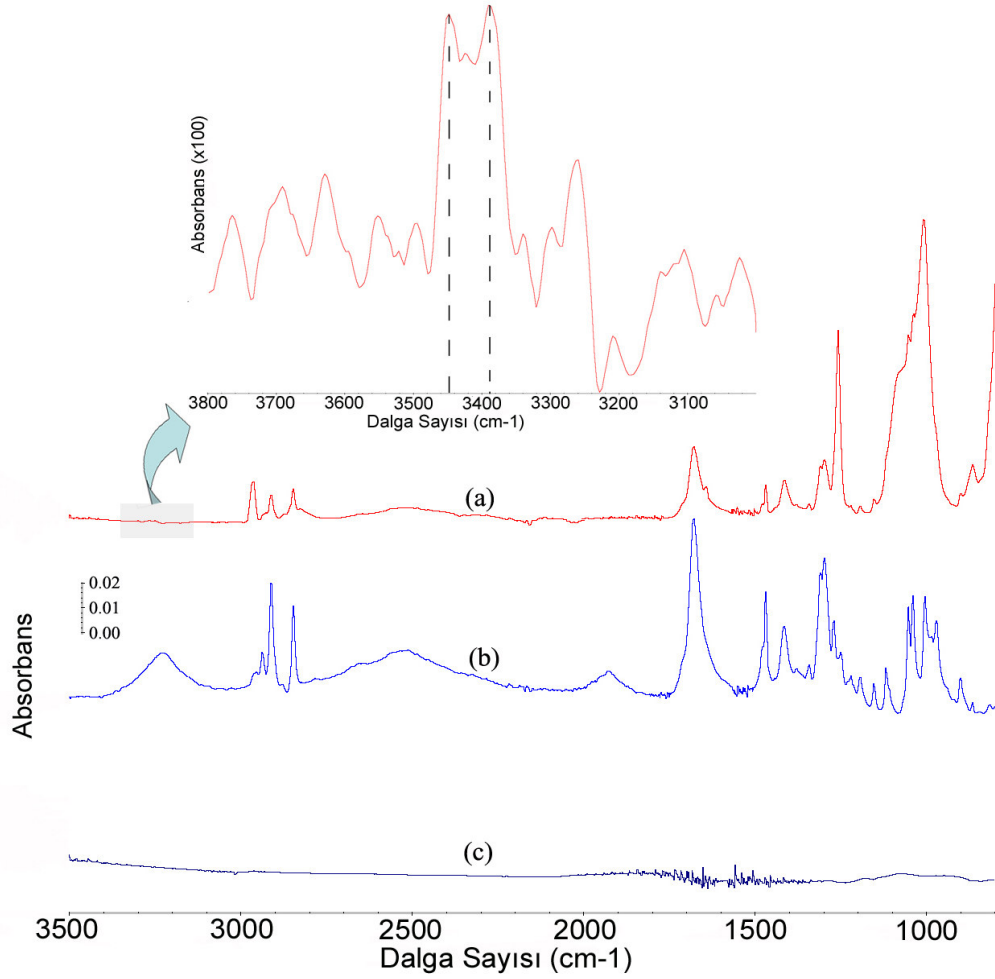


Şekil 5.2. HDA bağı silisyum yüzeylerin EDC/NHS ile aktive edilmesi mekanizması ve PDMS bağlanması

5.2. Yüzeylerin Karakterizasyonu

5.2.1. Yüzeylerin kimyasal yapısı

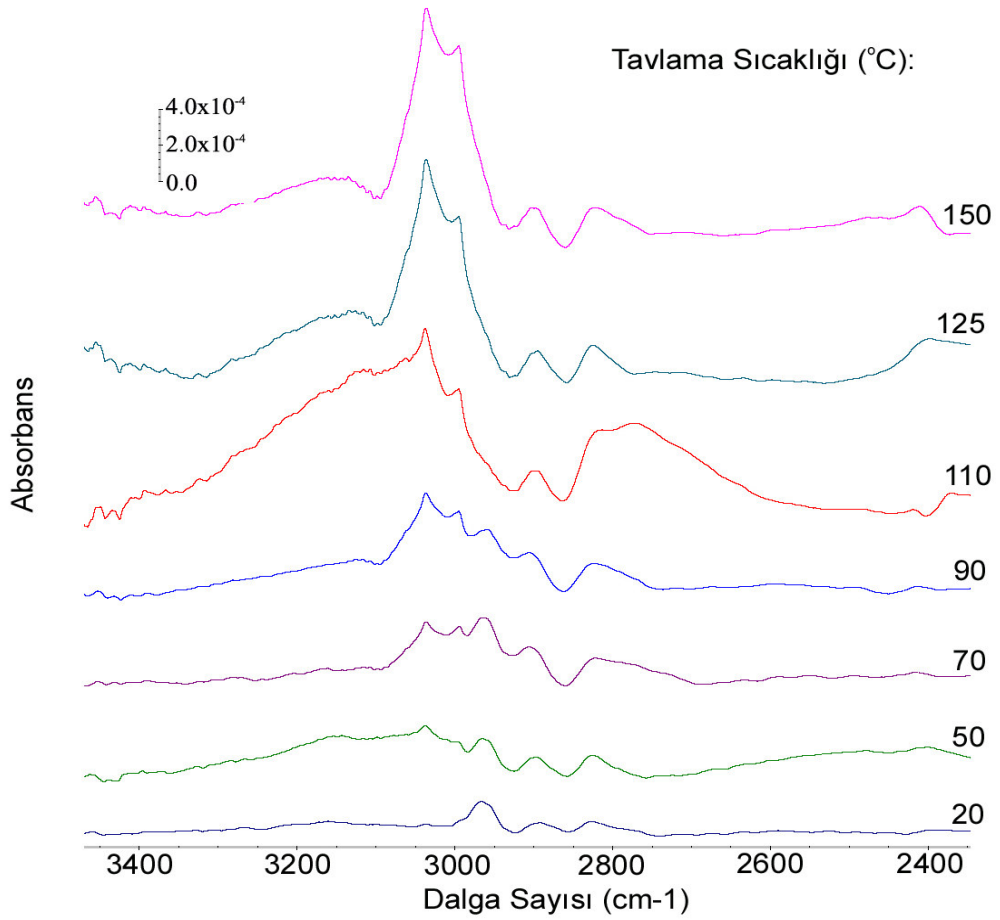
PDMS ve HDA ile tasarlanmış yüzeyler ile işlem görmemiş silisyum yüzeyin ATR-FTIR spektroskopisi ile alınan spektrumları Şekil 5.3'de gösterilmiştir. (b)'de HDA molekülünün -COOH (karboksil) grubuna ait -C=O (karbonil) bandı 1600-1700 arasındaki bant iken 3200-3300 arasındaki bant -OH (hidroksil) grubuna ait banttir. Hidroksil bandı (a) da görülmemektedir. Ayrıca (a)'da PDMS molekülünün -NH₂ (amino) grubuna ait bant 3450'de ikiye yarılmış halde görülmektedir, bununla beraber amit grubuna ait karbonil bandı 1700'de çatallanmış halde görülmektedir. Bu durum polimerin yüzeye kovalent bağlandığını göstermektedir.



Şekil 5.3. ATR-FTIR spektrumları; a) PDMS sonlu yüzey, b) HDA sonlu yüzey, c) İşlem görmemiş Si yüzey

PDMS bağlı yüzeylerin, sıcaklık duyarlılığının belirlenmesi amacıyla etüvde su buharı altında 20, 50, 70, 90, 110, 125 ve 150 °C 'daki tavlama sıcaklıklarında 30 dakika bekletilerek alınan ATR-FTIR spektrumları Şekil 5.4'de verilmiştir.

2900-3000 cm^{-1} 'deki bant PDMS'in $-\text{CH}_3$ gruplarına ait olup sıcaklığın artmasıyla bant şiddeti de artmıştır. Bu durum tavlama sıcaklığının artışıyla PDMS molekülündeki $-\text{CH}_3$ gruplarının yüzeyde zenginleştiğini böylece daha hidrofobik karakter kazandığını göstermektedir.



Şekil 5.4. PDMS sonlu yüzeylerin 20, 50, 70, 90, 110, 125 ve 150 °C 'daki tavlama sıcaklıklarında alınan ATR-FTIR spektrumları

Doms ve çalışma arkadaşları hidrofobik karakterde politetrafloroetilen polimerini dönel kaplama tekniği ile silisyum ve cam substratlar üzerine kaplamış ve elde edilen yüzeyleri değme açısı cihazı ve FTIR ile karakterize etmişlerdir. Elde edilen filmlerin 350 ve 450 °C'daki tavlama sıcaklıklarında FTIR spektrumları alınmış ve -CF gruplarının yüzeydeki miktarının arttığı gözlenmiştir [105].

5.2.2. Yüzey ıslanabilirliği ve pürüzlülüğü

Yüzeyler üzerinde oluşturulan kendiliğinden düzenlenen tekli ve çoklu tabakaların hidrofobik-hidrofilik özelliklerinin belirlenmesi birçok endüstriyel uygulamada büyük önem taşımaktadır. Kendiliğinden düzenlenme işlemi kullanılarak yüzeylerin ıslanabilirlik özellikleri kolaylıkla kontrol edilebilir.

Kluth ve arkadaşlarınca gerçekleştirilen bir çalışmada Si(100) yüzeylere farklı zincir uzunluklarında alkil siloksan molekülleri bağlanmış ve farklı değme açısı değerleri elde edilmiştir. Su ile ölçülen değme açısı değerleri 18 karbonlu alkil zincirler için 110, 8 karbonlular için 106 ve 4 karbonlu alkil zincirler için ise 100° olarak belirlenmiştir [106].

Janssen ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise çeşitli silan molekülleri ile Si(100) yüzeyinde SAM'ler hazırlanmıştır. Hazırlanan yüzeylerin ıslanabilirliği ve çözücü-substrat etkileşimi (yüzeylerin polaritesi) su, diiyodometan ve hekzadekan gibi farklı polaritelere sahip çözücüler kullanılarak statik değme açısı ölçümleri ile belirlenmiştir [107].

Bu çalışmada hazırlanan; işlem görmemiş, hidrosillenmiş, bromlanmış, HDA bağlı ve PDMS bağlı yüzeylerin su değme açısı sonuçları ve oluşan su damlalarının görüntüleri Çizelge 5.1 ve Şekil 5.5 ile verilmiştir.

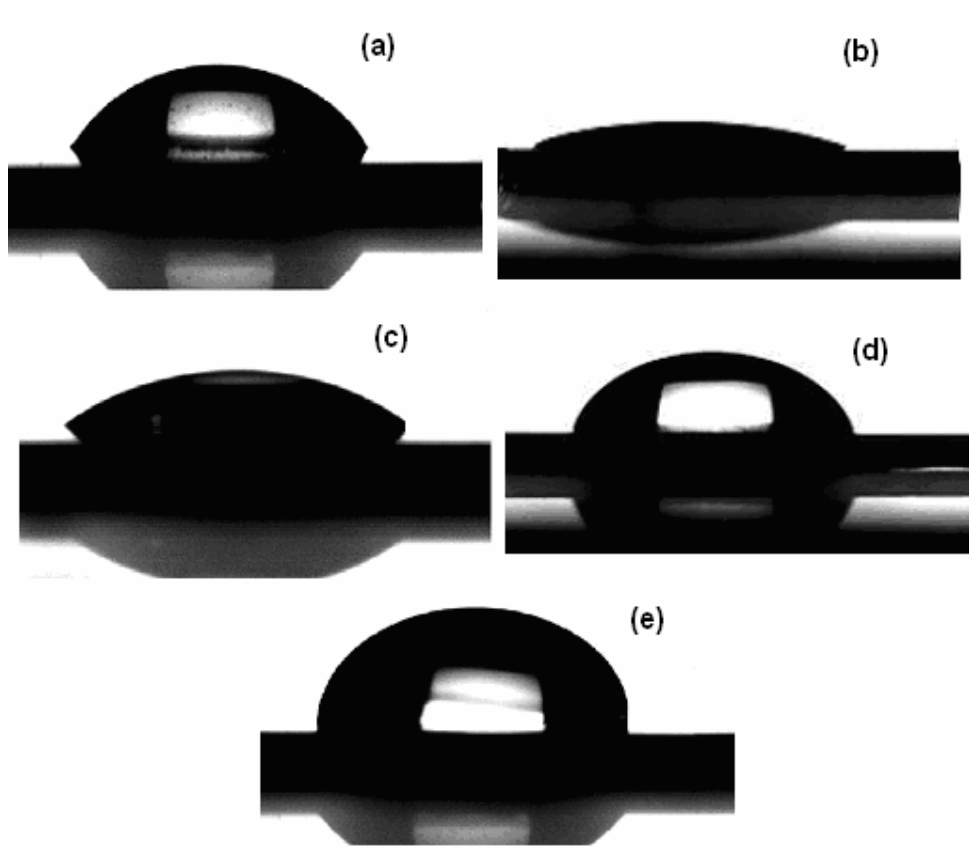
Su değme açısı ölçümleri HDA bağlı yüzeyin hidrofilik karakterde olduğunu, HDA-PDMS bağlı yüzeyin ise hidrofobik karakterde olduğunu göstermektedir.

Çizelge 5.1. İşlem görmemiş, hidrosillenmiş, bromlanmış, HDA bağlı ve PDMS bağlı yüzeylerin su değme açısı değerleri

	Sol ($^{\circ}$)	Sağ ($^{\circ}$)	Ortalama ($^{\circ}$)
Si	66,2	60,7	63,5 \pm 2,8
Si-OH	2,1	2,5	2,3 \pm 0,2
Si-Br	7,7	7,7	7,7
Si-HDA	30,7	22,1	26,4 \pm 4,3
Si-HDA-PDMS	91,3	91,5	91,4 \pm 0,1

PDMS yüzeyler hidrofobiktir ve değme açısı yaklaşık olarak 108° 'dir [108]. Ayrıca, Xia ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada [102], PDMS aşılansmış yüzey için değme açısı değeri 107° olarak bulunmuştur. Bu hidrofobik durum (düşük yüzey enerjisi) $-CH_3$ (metil) uç gruplarının varlığından kaynaklanmaktadır [109].

Bu çalışmada PDMS bağlı yüzeyin değme açısı yaklaşık $91,5^{\circ}$ ölçülmüştür. Bu durum PDMS molekülünün uç fonksiyonel grubu olan amino gruplarından kaynaklanmaktadır. Amino grupları moleküle biraz daha hidrofilik karakter kazandırmıştır. Ayrıca çözücü, çözelti konsantrasyonu ve sıcaklık da değme açısını etkileyen faktörlerdendir.

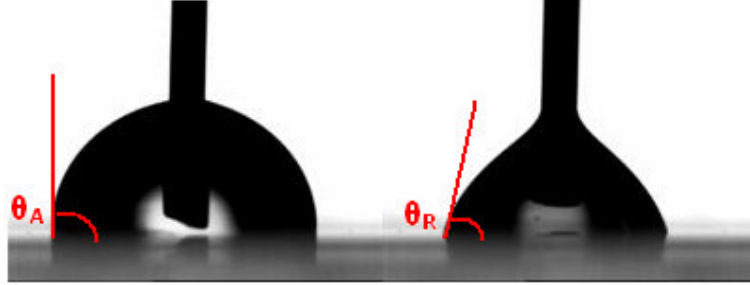


Şekil 5.5. Su değme açısı görüntüleri; a) işlem görmemiş, b) hidrosillenmiş, c) bromlanmış, d) HDA bağlı ve e) PDMS bağlı yüzeyler

İkinci aşamada, HDA bağlı ve PDMS bağlı yüzeylerin Histerizi (H) ölçümlerine (dinamik değme açısı ölçümleri) bakılarak yüzey pürüzlülükleri belirlendi.

Histerizi, katı yüzeyin pürüzsüzlüğünün bir ölçüsüdür. Histerizi ölçümlerinde, ilerleme açısı (damlanın büyümesi sırasındaki açı, θ_A , advancing) ve gerileme açısı (damlanın küçülmesi sırasındaki açı, θ_R , receding) ölçülür, arasındaki fark ($\Delta\theta$) da histerizi verir. Bu değer ne kadar küçükse yüzey pürüzlülüğü o kadar azdır. Çok düzgün yüzeylerde (ideal katılarda) $\Delta\theta \approx 0$ 'dır. Değme açısı ölçümleri su ile yapılır. Çünkü su, yüzeyin kimyasal bileşimine ve yüzeyin pürüzlülüğüne en duyarlı sıvıdır [110-113].

$$H \equiv \Delta\theta \equiv \theta_A - \theta_R \quad (5.1)$$



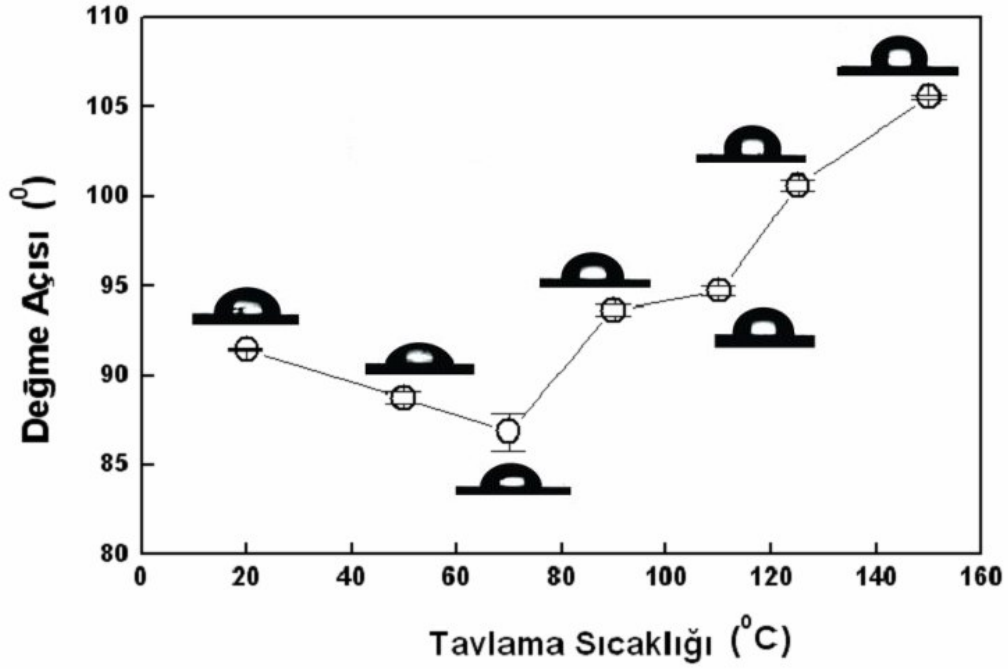
Şekil 5.6. Histerizi ölçümleri; (a) damlanın büyümesi (ilerleme açısı, θ_A), (b) damlanın küçülmesi (gerileme açısı, θ_R)

HDA bağlı ve PDMS bağlı yüzeylerin Histerizi ölçümleri Çizelge 5.2. de verilmiştir. Bu verilere göre HDA bağlı yüzeyin pürüzlülük değeri PDMS bağlı yüzeyden daha fazladır. Bu durumda polimerin yüzeydeki boşlukları kısmen doldurduğu ve bu nedenle yüzeyin pürüzlülüğünün azaldığı sonucuna varılabilir.

Çizelge 5.2. HDA bağlı ve PDMS bağlı yüzeylerin histerizi ölçümleri

	θ_A	θ_R	$H = \theta_A - \theta_R$
HDA	$70,6 \pm 1,4$	39,4	$31,2 \pm 1,4$
PDMS	$85,3 \pm 1,3$	$61,3 \pm 7,5$	$24 \pm 6,2$

Üçüncü aşamada ise PDMS bağlı yüzeyin sıcaklık duyarlılığı değme açısı ölçümleri ile incelenmiştir. Bu amaçla, PDMS bağlı yüzeyler, 20, 50, 70, 90, 110, 125 ve 150 °C'da 30'ar dakika etüvde su buharı altında bekletilerek her bir sıcaklık için su değme açıları belirlenmiş ve fotoğrafları alınmıştır. Elde edilen veriler ile oluşturulan sıcaklığa karşı değme açısı grafiği Şekil 5.7'de verilmiştir.



Şekil 5.7. HDA-PDMS ile tasarlanmış yüzeyin değme açısı-sıcaklık grafiği

Tavlama işlemi PDMS molekülünün camsı geçiş sıcaklığının (-123°C) üzerinde gerçekleştirildiği için molekül serbest olarak hareket edebilmektedir. PDMS molekülü çok esnek bir polimer olduğu için sıcaklık duyarlılığı gözlenmiş ve sıcaklık arttıkça yüzeyde zenginleşme gözlenmiştir.

Değme açısı değerlerine bakıldığında PDMS bağlı silisyum yüzeylerin genel olarak, sıcaklık arttıkça daha hidrofobik karakter kazandığı görülmektedir. Hidrofobik karakter kazanması yani yüzey enerjisinin düşmesi yüzeyde zenginleşmeye neden olmuştur. Bu durum sıcaklığın artmasıyla polimerdeki $-\text{CH}_3$ gruplarının açığa çıkması ile açıklanabilir ve ATR-FTIR sonuçları da bunu desteklemektedir. Bu hidrofobik durumun bazı avantajları vardır. Düşük biyokirillliğe ve yüksek oranda gaz taşıyabilme oranına sahiptirler [109].

Zhu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada polipropilen-poli(dimetil siloksan) ve polietilen-poli(dimetil siloksan) kopolimerler hazırlanmış ve hazırlanan filmlerin değme açısı cihazı ile $25-150^{\circ}\text{C}$ tavlama sıcaklıkları

arasında değme açısı değerleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre değme açısı değerleri; PP-PDMS filmler için $65-70^{\circ}\text{C}$, PE-PDMS filmler için $74-81^{\circ}\text{C}$ arasında değişerek artmıştır [114].

5.2.3. Yüzeylerin kalınlığı

HDA ve PDMS bağlı yüzeylerin antijen-antikor ilişkisini incelemek için HDA-PDMS bağlı silisyum yüzeyler üzerine sırasıyla biyotin, streptavidin, biyotinlenmiş Protein A ve IgG bağlanmıştır. Her bir aşamada elipsometre cihazı kullanılarak 532 nm dalga boyundaki ışığın 72° geliş açısı ile kalınlık ölçümü gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kalınlık değerleri Çizelge 5.3'de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi hidroksillenmiş silisyum yüzeyler üzerine her bir molekül bağlanması sonucunda yüzeyde kalınlık artışı gözlenmiştir. Bu durum moleküllerin yüzeye bağlandığını göstermektedir.

Çizelge 5.3. Hazırlanan yüzeylerin her aşamasındaki kalınlık değerleri

Hazırlanan yüzey	Kalınlık (nm)
Si-HDA	$5,3 \pm 0,2$
Si-HDA-PDMS	$15,6 \pm 0,1$
Si-HDA-PDMS-Biyotin	$19,5 \pm 0,5$
Si-HDA-PDMS-Biyotin-Streptavidin	$26,6 \pm 1,3$
Si-HDA-PDMS-Biyotin-Streptavidin-Biyotinlenmiş Protein A	$33,4 \pm 1,2$
Si-HDA-PDMS-Biyotin-Streptavidin-Biyotinlenmiş Protein A-IgG	$44,2 \pm 1,4$

HDA molekülü için hesaplanan teoriksel moleküler uzunluk 1,6 nm olup PDMS molekülü için etkin bir kalınlıktan söz etmek mümkün değildir. Çünkü polimerler yüzeyde film halinde veya yığılaşmış durumda bulunabilir.

Hidroksillenmiş yüzeyin film kalınlığı 3,6 nm olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre 5,3 nm kalınlığa sahip HDA bağlı silisyum yüzeylerin HDA tabakası (kalınlık artışı) 1,7 nm'ye karşılık gelmektedir. Bu kalınlık değeri HDA molekülünün yüzeyde tek tabaka oluşturduğunu [2] göstermektedir.

Bhushan ve çalışma arkadaşları gerçekleştirdikleri bir çalışmada silisyum yüzeyler üzerine 8-10 karbonlu çeşitli florosilan gruplar bağlamış ve film kalınlıkları 2-10 nm arasında değişen ultra ince florosilan filmler elde etmişlerdir. Bu değişim üzerinde sıcaklık ve basınç gibi faktörler önemli rol oynamıştır [109].

Wang ve çalışma arkadaşlarınınca gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise 11 karbonlu (11-aminoundesil) trimetoksisilan molekülleri ile silisyum yüzeyler üzerinde hazırlanan filmlerin kalınlıkları 6,9 nm olarak belirlenmiştir [115]. Bu farklılıkların nedeni filmlerin oluşumu sırasındaki çözelti derişimi, sıcaklık, bekletme süresi gibi film yapısını etkileyen deneysel etkenlerdir.

Polimer bağlı yüzeylerin 15,6 nm olarak belirlenen film kalınlığı, polimer bağlı yüzeyler için olağan bir durum olup literatürdeki çalışmalarda da benzer bir artış görülmektedir.

Sinha ve çalışma arkadaşları tarafından 3-aminopropiltrimetoksisilan (APTMS) molekülü ile tasarlanmış silisyum yüzeylerde doğrusal zincirlere sahip polistiren (PS) ve polietilen (PE) polimerleri ile hazırlanan APTS-PS ve APTS-PE filmlerin kalınlıkları sırasıyla 12,1 ve 15 nm olarak belirlenmiştir. APTS bağlı yüzeyin kalınlığı ise 4,1 nm olarak belirlenmiştir [116].

Iunov ve çalışma arkadaşları yüzeye aşılama metoduyla Si(100) yüzeyler üzerine iki tabakalı sistemler sentezlemişlerdir. Elipsometre ve AFM ile hazırlanan yüzeyleri karakterize etmişlerdir. Temizlenmiş silisyum yüzeyler öncelikle poli(glisidil metakrilat) polimer ile düzenlenmiş daha sonra ikinci tabaka olarak karboksil sonlu poly(etilen glikol) monometil eter polimeri farklı

sıcaklıklarda ve iki ayrı bekletme süresinde yüzeye kaplanmıştır. Değişen bu faktörler yüzeyde oluşan film kalınlıklarında da farklılıklara neden olmuştur. 51-98 °C'da 1 saat bekletilerek kaplanan yüzeylerde kalınlık değerleri 0,5-1,6 nm arasında değişirken, 65-129 °C'da 4 saat bekletilerek kaplanan yüzeyler de ise 1,8-6,6 nm aralığında değişen kalınlık değerleri gözlenmiştir [117]. Yüzeydeki filmlerin kalınlığını sıcaklık, polimerin mol kütlesi ve bekletme süresi gibi faktörler önemli ölçüde etkilemektedir.

IgG molekülünün yüksekliği yaklaşık 12 nm, kalınlığı ise 4 nm'dir [68]. Bu çalışmada IgG tabakasının yüksekliği 10,76 nm olarak belirlenmiştir. Protein A molekülü IgG'nin F_c bölgesiyle etkileştiği için [68], bu kalınlık artışı IgG molekülünün F_{ab} bölgelerinin yüzeyden ileriye doğru yönlendiğini göstermektedir.

5.2.4. Yüzey morfolojisi

HDA, PDMS molekülleri ve biyomoleküller ile hazırlanan filmlerin AFM kullanılarak elde edilen üç boyutlu (a), iki boyutlu (b) yüzey morfolojileri ve yükseklik dağılım grafikleri (c);, HDA, PDMS, biyotin, streptavidin, biyotinlenmiş Protein A ve IgG molekülleri bağlanmış silisyum yüzeyler için sırasıyla Şekil 5.8-Şekil 5.13'de gösterilmiştir. AFM görüntüleri 2000x2000 nm² (2x2 µm²) genişliğindeki alandan elde edilmiştir.

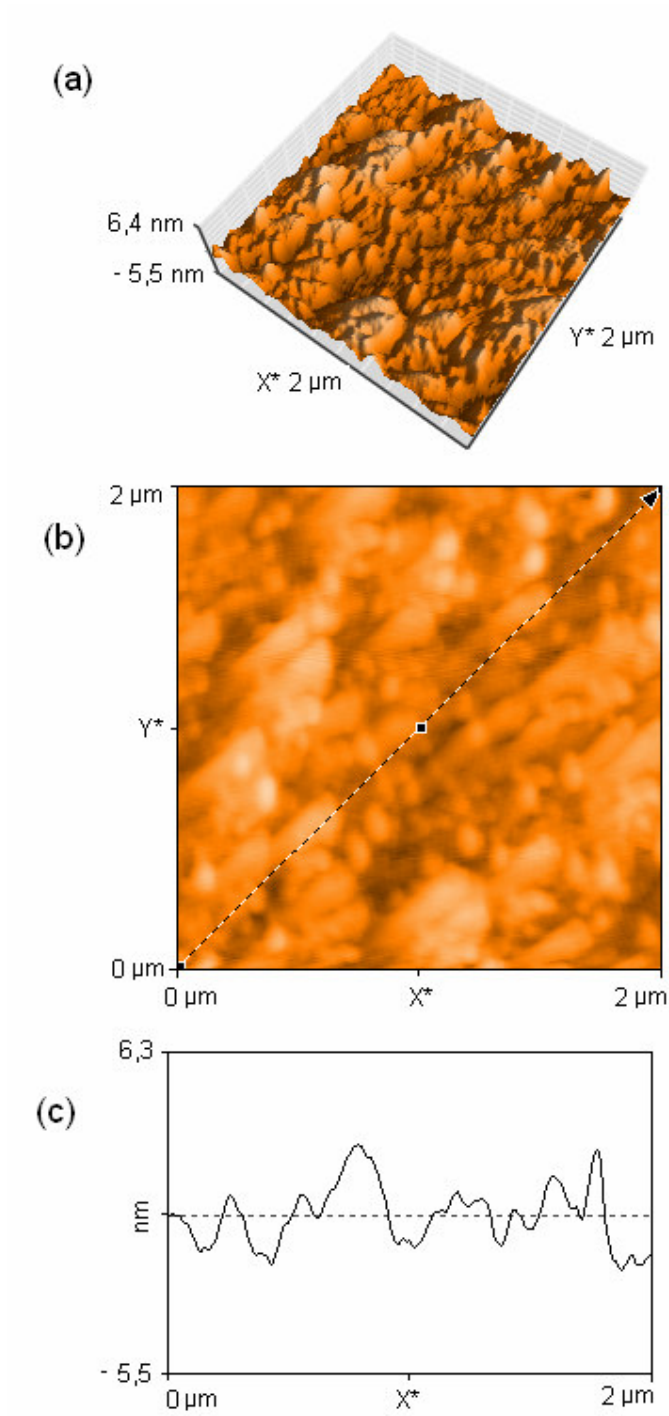
Tasarlanan yüzeylerin iki boyutlu yüzey morfolojilerinde açık renkli bölgeler yüzeyler üzerinde oluşan adacıkları, koyu renkli bölgeler ise çukur bölgeleri göstermektedir. AFM görüntülerinin üç boyutlu ve iki boyutlu morfolojileri incelendiğinde yüzeyler üzerindeki belli bölgelerde çeşitli büyüklükte sık istiflenmiş adacıklar görülmektedir. Bu adacıklar yüzeye bağlanan molekülleri gösterdiğinden, dolayısıyla moleküllerin yüzey üzerindeki dağılımını göstermektedir.

Hazırlanan filmlerin $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ genişliğindeki alanda yüzey pürüzlülüğü (Root Mean Square [RMS]) değerleri belirlenmiştir. RMS değeri, ortalama yüzey kalınlığı değeridir. Bu değer ne kadar düşüğe yüzeydeki moleküller o kadar düzgün ve sıkı yönelmiş denilebilir. Hidroksillenmiş silisyum yüzey için RMS değeri 0,393 nm olarak belirlenmiştir. HDA bağlı yüzey için elde edilen RMS değeri 1,214 nm olarak belirlenmiştir. HDA molekülü için elde edilen üç boyutlu ve iki boyutlu yüzey morfolojileri (Şekil 5.8.a, Şekil 5.8.b) incelendiğinde yüzeyler üzerinde heterojen bir düzenlenme olduğu görülmektedir. HDA moleküllerinin düzenlenmesinde karbon zincirleri arasındaki etkileşimler nedeni ile yüzeyler üzerinde bazı bölgelerde yığılımlar oluşmuş ve düzenlenmesi homojen olarak gerçekleşmemiştir. Bu nedenle yüksek RMS değeri elde edilmiştir.

Zhu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Si(100) yüzeyler üzerinde APTES ve perflorododekanoik asit (PFDA) molekülleri kullanılarak hazırlanan çift tabakaların AFM ile elde edilen RMS değeri 0,408 nm olarak bulunmuştur [15]. İlk tabakası bir silan molekülü olan APTES ile hazırlanmış bu yüzeylerde etoksi gruplarının yüzeyler üzerine daha sıkı bir şekilde bağlanması sonucu RMS değeri düşük çıkmıştır.

Ayrıca yüzeylerin pürüzlülüğünü, çözelti konsantrasyonu, bekletme süresi ve sıcaklık gibi faktörler de etkilemektedir.

Zhang ve çalışma arkadaşları gerçekleştirdikleri bir çalışmada farklı derişimlerdeki APTMS çözeltisinde beklettikleri silisyum yüzeyleri AFM ile karakterize etmişler ve çözelti derişimi arttıkça yüzeylerin RMS değerlerinin arttığını gözlemlemişlerdir. 3, 5 ve 10 mM hazırlanan APTS çözeltilerinin silisyum yüzey üzerinde oluşturduğu filmlerin RMS değerlerini sırasıyla 0,568, 0,97 ve 1,984 nm olarak belirlemişlerdir. Derişimin artması APTS moleküllerinin yüzeyde daha az düzenlenmesine ve pürüzlülük değerinin artmasına neden olmuştur [121].

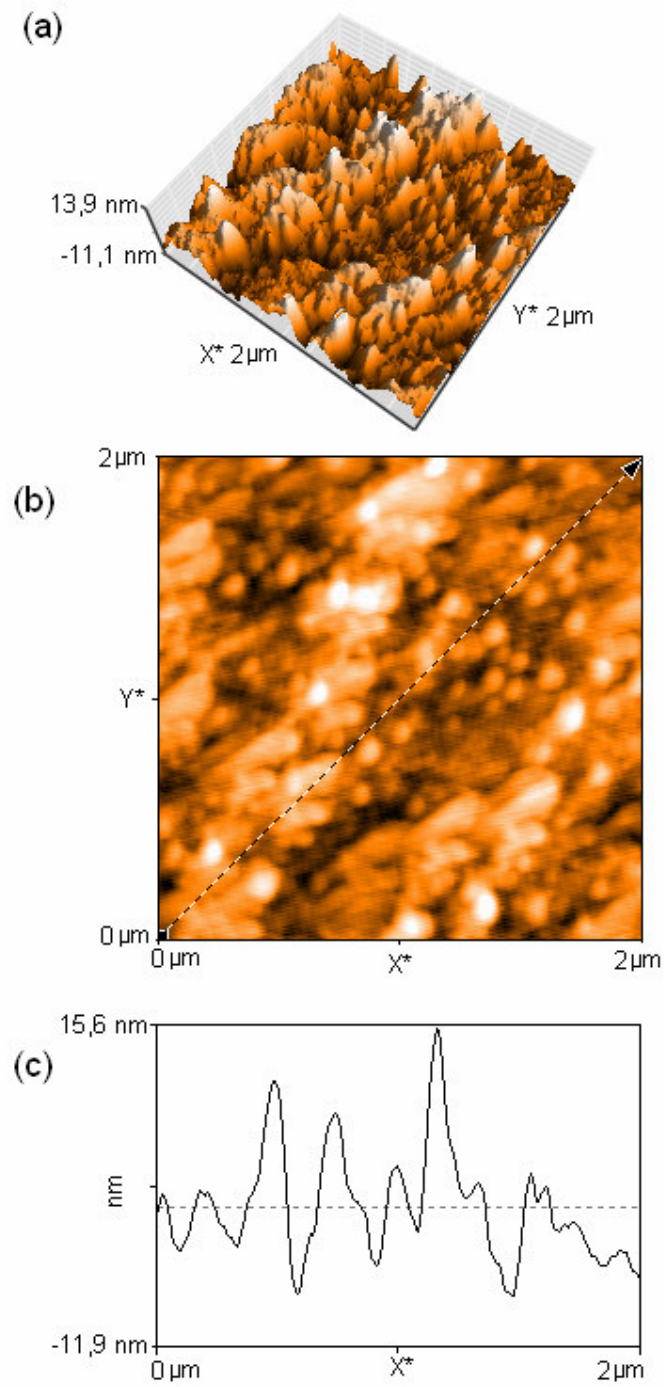


Şekil 5.8. HDA ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri

HDA-PDMS ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri Şekil 5.9'da verilmiştir. Polimer sonlu yüzeylerin RMS değeri ise 3,839 nm olarak belirlenmiştir. PDMS sonlu yüzeyin üç boyutlu AFM görüntüsüne bakıldığında polimerin bazı bölgelerde yoğunlaştığı görülmektedir. Yüzeyler üzerinde kovalent bağlanma ile gerçekleştirilmiş polimer filmler polimer ve substratın türüne göre çeşitli RMS değerlerine sahip olabilmektedir.

Sinha ve çalışma arkadaşları tarafından APTMS molekülü ile tasarlanmış silisyum yüzeylerde doğrusal zincirlere sahip polistiren (PS) ve polietilen (PE) polimerleri ile hazırlanan APTMS-PS ve APTMS-PE filmlerin RMS değerleri sırasıyla 1,6 ve 1,9 nm olarak belirlenmiştir [116].

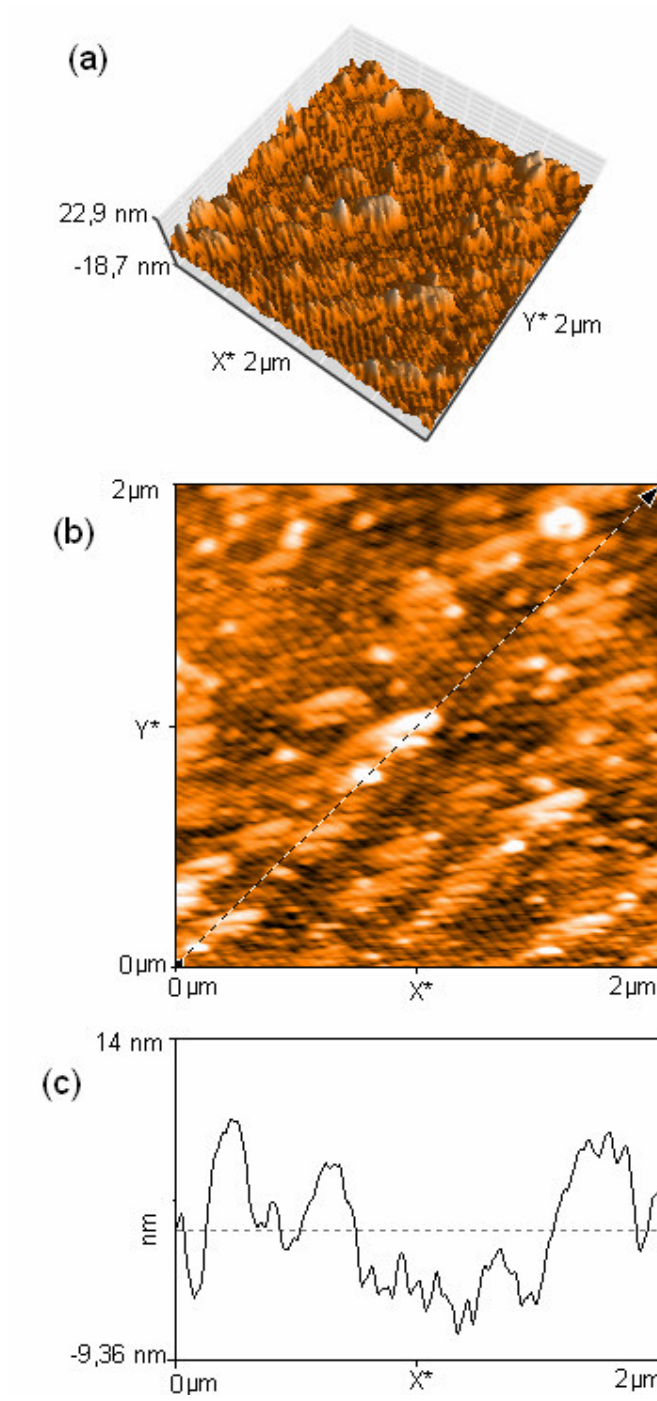
Jung ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada amino(organo)polisiloksan molekülleri çeşitli substratlar üzerine bağlanmış ve farklı RMS değerleri elde edilmiştir: Silisyum yüzeyler üzerinde oluşturulan filmler için 0,5-2,0 nm, metal oksit yüzeyler (alüminyum oksit ve zirkonyum oksit) üzerinde oluşturulan filmler için 0,5-0,6 nm ve polimer yüzeyler üzerinde oluşturulan filmler için ise 0,4-0,5 nm olarak belirlenmiştir [122].



Şekil 5.9. HDA-PDMS ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri

Biyotin ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri Şekil 5.10'da verilmiştir. Biyotinlenmiş yüzeylerin RMS değeri ise 3,683 nm olarak belirlenmiştir.

Rahman ve çalışma arkadaşları gerçekleştirdikleri bir çalışmada APTES molekülü ile tasarladıkları Si(100) yüzeyler üzerine sırasıyla biyotin, nötravidin ve biyotinlenmiş DNA immobilize etmişlerdir. Biyotinlenmiş silisyum yüzeylerin RMS değerleri $0,65 \pm 0,18$ nm olarak belirlenmiştir [123]. Silan moleküllerinin yüzeyde sıkı bir şekilde düzenlenmesi sonucu homojen bağlanmış biyotin sonlu yüzeyler elde edilmiştir.

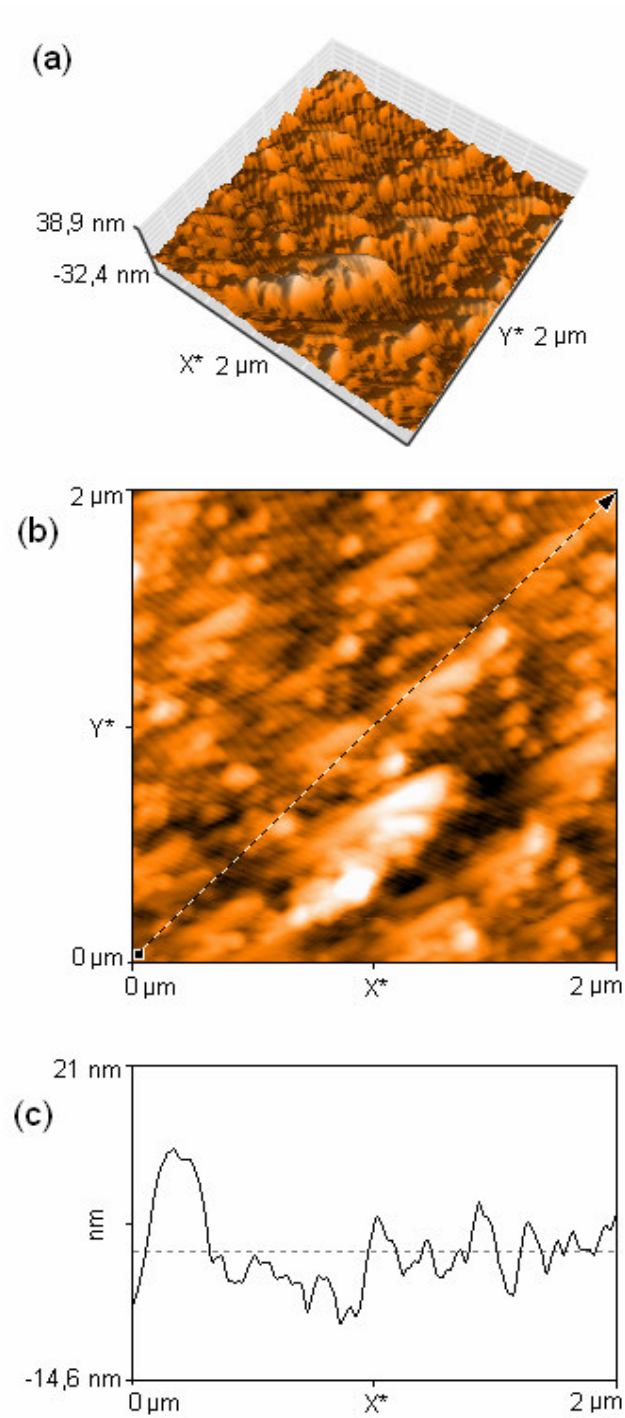


Şekil 5.10. HDA-PDMS-biyotin ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri

Streptavidin ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri Şekil 5.11'de verilmiştir. Streptavidin bağlı yüzeylerin RMS değeri 4,308 nm olarak belirlenmiştir.

Tero ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada 2-(karbometoksi)etiltriklorosilan (CMETS) molekülü ile tasarlanan Si(111) yüzeyler HCl ile muamele edilip –COOH sonlu yüzeyler hazırlanmış ve yüzeyler 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid hidroklorür molekülü ile aktifleştirildikten sonra ve avidin molekülünü içeren farklı derişimlerdeki çözeltilerde bekletilmiştir. Avidin sonlu yüzeylerin kalınlığı AFM ile belirlenmiştir. 5 nM ve 160 nM çözeltiler için belirlenen kalınlıklar sırasıyla 1,7 ve 12,7 nm olarak belirlenmiştir. İki boyutlu AFM görüntülerinde ise 5 nM avidin çözeltisinde bekletilen yüzeylerde homojen bağlanma elde edildiği görülmüştür [124].

Guo ve arkadaşlarınca gerçekleştirilen bir çalışmada silisyum dioksit yüzeyinde litografik teknikle altın ile desenlenmiş yüzeylere sırasıyla biyotinlenmiş DNA ve streptavidin molekülü adsorbe edilmiş elde edilen yüzeylerin AFM ile ölçülen yüzey kalınlığı 20 nm olarak belirlenmiştir [125].



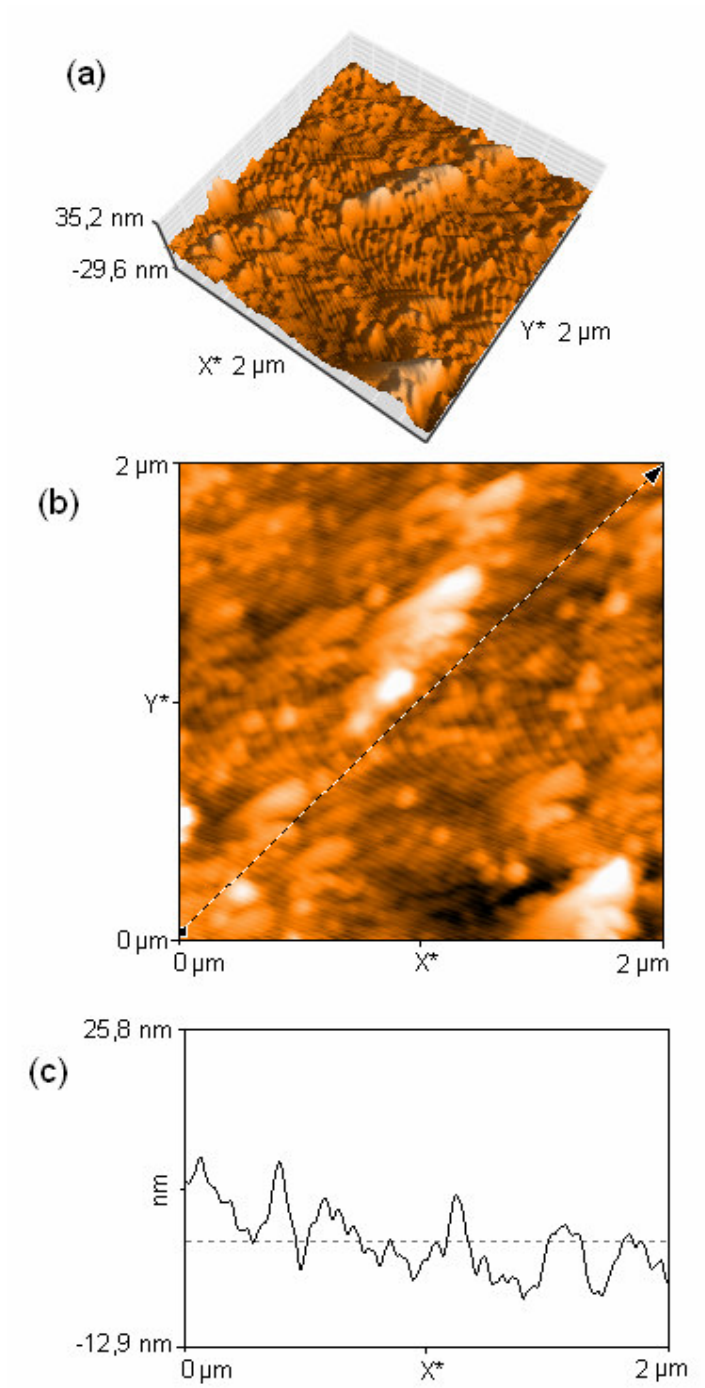
Şekil 5.11. HDA-PDMS-biyotin-streptavidin ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri,

Biyotinlenmiş Protein A ve IgG ile tasarlanmış yüzeylerin (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri Şekil 5.12 ve Şekil 5.13'de gösterilmiştir. Biyotinlenmiş Protein A ve IgG ile tasarlanmış yüzeylerin RMS değerleri ise sırasıyla 3,941 ve 7,387 nm olarak belirlenmiştir. Bu değerler literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

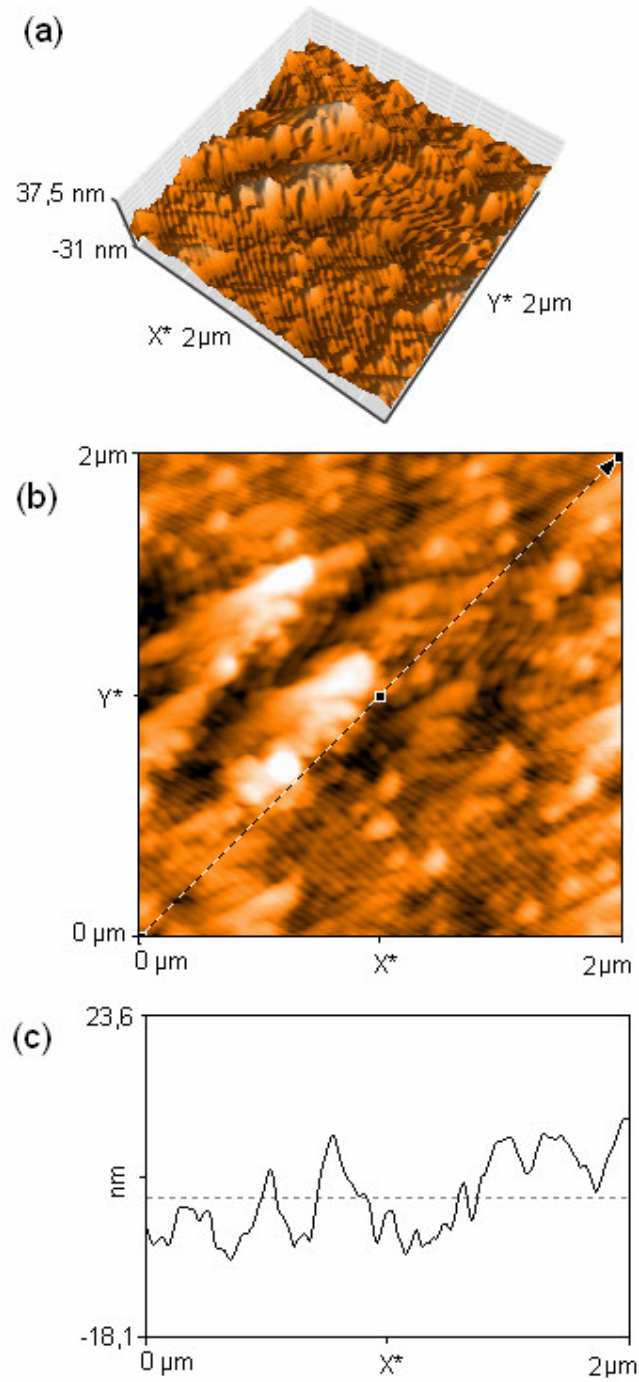
Lee ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada altın yüzeyler sırasıyla Protein A ve salmonella-antikor molekülü bağlanmıştır. Protein A ile hazırlanmış yüzeylerin RMS değerleri $3,0 \pm 1,0$ nm olarak belirlenmiştir [126].

Vashist ve arkadaşlarınca gerçekleştirilen bir çalışmada altın kaplı silisyum yüzeyler üzerine sırasıyla Protein A ve IgG molekülü immobilize edilmiş, RMS değerleri ise sırasıyla 10,6 nm ve 17,3 nm olarak belirlenmiştir [69].

Follstaedt ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Si(100) yüzeyler üzerinde oktadesiltrimetoksisilan (OTMS) ve N-(trietoksililpropil)-O-poliethileneoksit üretan (TESP) molekülleri ile iki ayrı tabaka tasarlanmış, ardından bu yüzeylere bovine serum albümin (BSA) proteini adsorbe edilmiş ve her aşamada yüzeylerin AFM ile yüzey morfolojileri belirlenmiştir. OTMS ve TESP bağlanmış silisyum yüzeylerin RMS değerleri sırasıyla 0,1 ve 1,3 nm olarak belirlenirken, BSA proteininin adsorpsiyonundan sonra RMS değerleri 2,7 ve 2,4 nm olarak belirlenmiştir [127].



Şekil 5.12. HDA-PDMS-biyotin-streptavidin-biyotinlenmiş Protein A ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri



Şekil 5.13. HDA-PDMS-biyotin-streptavidin-biyotinlenmiş Protein A-IgG ile tasarlanmış Si(100) yüzeyler için (a) üç boyutlu, (b) iki boyutlu yüzey morfolojileri ve (c) yükseklik dağılım görüntüleri

Tasarlanan yüzeylerin iki boyutlu ve üç boyutlu görüntülerindeki adacıklara bakıldığında moleküllerin yüzeye sık istiflenmiş bir şekilde bağlandığını görülmektedir.

Hazırlanan filmlerin $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ genişliğindeki alanda belirlenen RMS değerleri Çizelge 5.4'de verilmiştir.

Çizelge 5.4. HDA, PDMS ve biyomoleküller ile tasarlanmış silisyum yüzeyler için elde edilen RMS değerleri

Hazırlanan yüzey	RMS (nm)
Si-OH	0,393
Si-HDA	1,214
Si-HDA-PDMS	3,839
Si-HDA-PDMS-Biyotin	3,683
Si-HDA-PDMS-Biyotin-Streptavidin	4,308
Si-HDA-PDMS-Biyotin-Streptavidin-Biyotinlenmiş Protein A	4,139
Si-HDA-PDMS-Biyotin-Streptavidin-Biyotinlenmiş Protein A-IgG	7,382

Çizelge 5.4 incelendiğinde tasarlanan yüzeyler için RMS değerlerinin yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum moleküllerin yüzeye heterojen bağlandığını ve belli bölgelerde yığılımlar olduğunu göstermektedir. Ayrıca, yüzeye her bir molekül bağlanmasından sonra RMS değerleri artmıştır. Bu değişim moleküllerin yüzeylere bağlandığını göstermektedir. Bununla beraber tasarlanan yüzeylerin iki boyutlu ve üç boyutlu morfolojileri incelendiğinde yüzeylerde sık istiflenmiş adacıkların bulunduğu görülmektedir. Bu durum da moleküllerin yüzeylere bağlandığını göstermektedir.

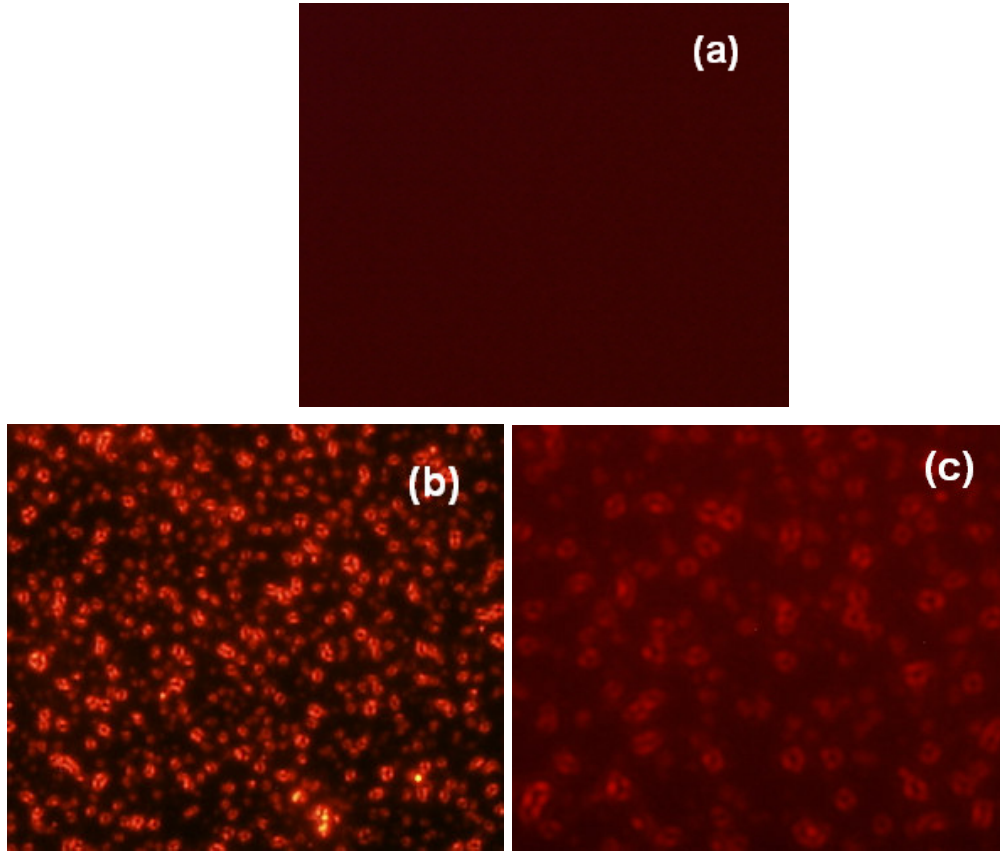
5.2.5. Yüzey deseni

Yüzey desenlerinin flüoresans mikroskobu ile belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda flüoresans etiketli biyomoleküller kullanılmıştır. Jang ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada fotolitografi tekniği kullanılarak silisyum üzerinde altın ile desenlenmiş yüzeylere 11-merkaptoundekanoik asit (11-MUA) ve 4,4-ditiyodibütirikasit (4,4-DTBA) molekülleri bağlandıktan sonra yüzeylere flüoresans etiketli Protein A molekülü immobilize edilmiştir. Elde edilen yüzeylerin flüoresans mikroskobu ile desenleri belirlenmiştir. 11-MUA ve 4,4 DTBA çözeltilerinin derişimlerinin artmasıyla, flüoresans etiketli Protein A molekülü immobilize edilmiş yüzeylerin flüoresans sinyallerinin yoğunlaştığı görülmüştür [118].

Çaykara ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada APTMS molekülü ile tasarlanmış amin sonlu filmlere yüzey desenlerinin belirlenmesi amacıyla sırasıyla biyotin streptavidin ve flüoresans etiketli streptavidin molekülü bağlanmış ve flüoresans mikroskobu ile yüzey desenleri belirlenmiştir [119].

Demirel ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise silisyum yüzeylerde sırasıyla 3-glisidoksipropiltrimetoksisilan, 2,2'-(etilendioksi) dietilamin, Protein A ve flüoresans etiketli IgG molekülleri ile tasarlanmış filmlerin yüzey desenleri belirlenmiştir [120].

Bu çalışmada yüzey desenlerinin belirlenmesi amacıyla flüoresans etiketli IgG kullanılmış ve elde edilen Si-HDA-PDMS-Biyotin-Streptavidin-Biyotinlenmiş Protein A- IgG yüzeylerin desenleri *Flüoresans mikroskobu* kullanılarak 40 büyütme ve 100 büyütme ile belirlenmiştir. Elde edilen görüntüler Şekil 5.14'de verilmiştir.



Şekil 5.14. HDA-PDMS ile tasarlanmış yüzeyler üzerine biyomoleküllerin bağlanması ve IgG'nin tutuklanması ile elde edilmiş Flüoresans mikroskobu görüntüleri: (a) hidroksillenmiş silisyum yüzey (x100), (b) IgG tutuklanmış yüzey (x40), (c) IgG tutuklanmış yüzey (x100)

Elde edilen görüntülerde hidroksillenmiş yüzeyde hiçbir flüoresans sinyali belirlenmemiştir. Bunun nedeni bu yüzeyler üzerine IgG tutuklanması için gerekli aktif moleküllerin yüzeyde bulunmamasıdır. Biyomoleküller ile tasarlanmış PDMS bağlı yüzeyler üzerinde kuvvetli flüoresans sinyalleri gözlenmiştir. Bu sinyaller IgG 'nin varlığını ve yönelme şeklini göstermektedir. Ayrıca sinyallerin yoğunluğu ve bu yoğunluğun hemen hemen eşit dağılması homojen bir bağlanma olduğunu da göstermektedir. IgG molekülünün yönelmesi belli bir düzene göre olmamıştır. Bu durum ise kendiliğinden düzenlenmeye göre, moleküllerin en kararlı yapıyı oluşturacak şekilde yüzeyler üzerinde düzenlenmesinin bir sonucudur.

6. SONUÇLAR

- HDA, dodekanol ve PDMS molekülleri kullanılarak Si(100) yüzeyleri üzerinde amino uç gruplu kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar tasarlanmıştır. Tasarlanan yüzeylerin biyokimyasal malzemelere karşı duyarlılık göstermesi için hazırlanan yüzeylere biyotin, streptavidin ve biyotinlenmiş Protein A bağlanmış ve IgG immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir.
- Yüzeylerin hidrofilik ve hidrofobik karakterleri su değme açısı ölçüm cihazı kullanılarak belirlenmiştir. İşlem görmemiş, hidrosillenmiş, bromlanmış, HDA, HDA-PDMS bağlı Si(100) yüzeylerin su değme açıları sırasıyla $63,5^{\circ}$, $2,3^{\circ}$, $7,7^{\circ}$, $26,4^{\circ}$ ve $91,5^{\circ}$ olarak belirlenmiştir. Su değme açısı ölçümleri HDA bağlı yüzeyin hidrofilik karakterde olduğunu, HDA-PDMS bağlı yüzeyin ise hidrofobik karakterde olduğunu göstermektedir.
- HDA ve HDA-PDMS bağlanmış yüzeylerin değme açısı cihazı ile belirlenen histerizi değerleri sırasıyla $31,2$ ve 24°C olarak bulunmuştur. Bu verilere göre HDA bağlı yüzeyin daha pürüzlü olduğu, polimerin ise yüzeydeki boşlukları kısmen doldurduğu ve bu nedenle daha az pürüzlülük değerine sahip olduğu belirlenmiştir.
- Yüzeylerin kimyasal yapısı ATR-FTIR spektroskopisi ile belirlenmiştir. İşlem görmemiş, HDA ve HDA-PDMS bağlı yüzeylerin ATR-FTIR spektrumları alınmıştır. HDA bağlanmış silisyum yüzeyin spektrumunda HDA molekülünün $-\text{COOH}$ grubuna ait bantlar görülürken, HDA-PDMS bağlanmış silisyum yüzeyin spektrumunda PDMS molekülüne ait amino uç grubuna ve amit grubunun karbonil bandına ait bantlar görülmüştür.

- HDA-PDMS bağı silisyum yüzeyin sıcaklık duyarlılığı ATR-FTIR spektroskopisi ile belirlenmiştir. Spektrumlarda, tavlama sıcaklığının artışıyla PDMS molekülündeki $-CH_3$ gruplarının yüzeyde zenginleştiği görülmüştür. Ayrıca HDA-PDMS bağı silisyum yüzeyin sıcaklık duyarlılığı değme açısı cihazı ile de belirlenmiştir. Su değme açısı sonuçlarına göre sıcaklık artışıyla yüzeylerin hidrofobik karakterinin arttığı belirlenmiştir.
- HDA ve HDA-PDMS ile hazırlanmış yüzeylerin kalınlıkları elipsometre cihazı kullanılarak sırası ile 5,3 ve 15,6 nm olarak bulunmuştur. Hidroksillenmiş silisyum yüzeylerin kalınlığı ise 3,6 nm olarak bulunmuştur. Bu verilere göre HDA molekülü yüzeyde tek tabaka oluşturmuştur. PDMS bağı yüzeydeki kalınlık artışı ise polimer bağı yüzeyler için olağan bir durumdur.
- Sırasıyla biyotin, streptavidin, biyotinlenmiş Protein A ve IgG biyomolekülleri kullanılarak hazırlanan yüzeylerin her bir aşamasındaki kalınlık değerleri elipsometre cihazı ile belirlenmiştir. Her aşamada kalınlık artışı gözlenmiştir. IgG tabakasının yüksekliği ise 10,76 nm olarak belirlenmiştir. Bu kalınlık artışı IgG molekülünün F_{ab} bölgelerinin yüzeyden ileriye doğru yönlendiğini göstermektedir.
- Tasarlanan yüzeylerin üç boyutlu, iki boyutlu yüzey morfolojileri ve yüzeyler üzerindeki yükseklik dağılımları atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile belirlenmiştir. Hidroksillenmiş, HDA, HDA-PDMS, HDA-PDMS-biyotin, HDA-PDMS-biyotin-streptavidin, HDA-PDMS-biyotin-streptavidin-biyotinlenmiş Protein A, HDA-PDMS-biyotin-streptavidin-biyotinlenmiş Protein A-IgG ile hazırlanan yüzeylerin AFM'den elde edilen RMS değerleri sırasıyla, 0,393, 1,214, 3,839, 3,683, 4,308, 4,139 ve 7,382 nm olarak belirlenmiştir. RMS değerlerindeki artış, moleküllerin yüzeylere bağlandığını, bu nedenle pürüzlülüklerinin değiştiğini göstermektedir.

- Flüoresans etiketli IgG kullanılarak hazırlanan yüzeylerin desenleri flüoresans mikroskobu kullanılarak belirlenmiştir. Flüoresans sonuçlarına göre IgG molekülü yüzeye yoğun bir şekilde bağlanmış ama belli bir düzene göre dağılmamıştır. Bu durum kendiliğinden düzenlenmenin doğasında bulunan bir olgudur.

- Bu sonuçlara göre HDA-PDMS ile hazırlanılacak SAM'ler biyolojik aktiviteye sahip oldukları için hastalıkların erken teşhisinde, tedavisinde protein çip olarak ve DNA çip çalışmalarında da kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. İnternet, TÜBİTAK “Nanobilim ve Nanoteknoloji Stratejileri”, [http:// vizyon2023.tubitak.gov.tr/Strateji Belgesi-nano.pdf](http://vizyon2023.tubitak.gov.tr/Strateji%20Belgesi-nano.pdf) (2004).
2. Demirel, G., “Si(100) yüzeyler üzerine kendiliğinden düzenlenen biyolojik aktiviteye sahip tabakaların tasarımı”, Doktora Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 4, 75 (2006).
3. Faucheux, N., Groth., T., Lützow, K., Schweiss, R., Werner, C., “Self-assembled monolayers with different terminating groups as model substrates for cell adhesion studies.” **Biomaterials**, 25:2721-2730 (2004).
4. Tao, Y. T., Wasserman, S. R., Whitesides., G. M., “Structure and Reactivity of Alkylsiloxane Monolayers Formed by Reaction of Alkyltrichlorosilanes on Silicon Substrates.” **Langmuir**, 5:1074-1087 (1989).
5. Duwez, A.-S., Jonas, U., Klein, H., “Influence of molecular arrangement in self-assembled monolayers on adhesion forces measured by chemical force microscopy.”, **Chemphyschem**, 4: 1107-1111 (2003).
6. Cha, T.-W., Boiadjev, V., Lozano, J., Yang, H., Zhu, X.-Y., “Immobilization of oligonucleotides on poly(ethylene glycol) brush-coated Si surfaces.”, **Analytical Biochemistry**, 311: 27-32 (2002).
7. Bain, C. D., Whitesides, G. M., “Molecular-level control over surface order in self-assembled monolayer films of thiols on gold.”, **Science**, 240: 62-63 (1988).
8. Bain, C. D., Whitesides, G. M., “Correlations between wettability and structure in monolayers of alkanethiols adsorbed on gold.”, **Journal of American Chemical Society**, 110: 3665-3666 (1988).
9. Angermaier, L., Knoll, W., Liley, M., Müller, W., Ringsdorf, H., Rump, E., Spinke, J., Wildburg, G., Zhang, X., “Attempts to mimic docking processes of the immune system: Recognition-induced formation of protein multiplayers.”, **Journal of Science**, 262: 1706-1708 (1993).
10. Brushan, B., Liu, H., “Nanotribological properties and mechanisms of alkylthiol and biphenyl thiol self-assembled monolayers studied by AFM.”, **Physical Review**, 63:1-11 (2005).

11. Hooper, A. E., Werho, D., Hopson, T., Palmer, O., "evaluation of amine- and amide-terminated self-assembled monolayers as molecular glues for Au and SiO₂ substrates", **Surface and Interface Analysis**, 31:809-814 (2001).
12. Yuan, W., Oouji, W. J. V., "Characterization of organofunctional silane films on zinc substrates", **Journal of Colloid and Interface Science**, 185:197-200 (1997).
13. Bain, C. D., Evall, J., Whitesides, G. M., "Formation of monolayer by coadsorption of thiols on gold: variation in the head group, tail group and solvent", **Journal of American Chemical Society**, 111:7155-7164 (1989).
14. Ren, S., Yang, S., Zhao, Y., Zhou, J., Xu, T., Liu, W., "Friction and wear studies of octadecyltrichlorosilane SAM on silicon", **Tribology Letters**, 13: 233-239 (2002).
15. Zhu, M., Mo, Y., Bai, M., "Preparation and nano/microtribological properties of perfluorododecanoic acid (PFDA)-3-aminopropyltriethoxysilane (APS) self-assembled dual-layer film deposited on silicon", **Colloids and Surfaces**, 322: 170-176 (2008).
16. Kingsley, J. D., Dou, H., Morehead, J., Rabinow, B., Gendelman, H. E., Destache, C. J., "Nanotechnology: a focus on nanoparticles as a drug delivery system.", **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, 1: 340-350 (2006).
17. Chen, H., Li, J., "Nanotechnology: Moving From Microarrays Toward Nanoarrays.", **Methods in Molecular Biology**, 381: 411-436 (2007).
18. Ulman, A., "An Introduction to Ultrathin Organic Films.", **Academic Press**, New York, 8-15 (1990).
19. Roberts, G. G., "Technological applications of Langmuir-Blodgett films.", **Physics in Technology**, 12: 69-75 (1981).
20. Owens, F. J., Poole, C. P., "Introduction to nanotechnology.", **John Wiley & Sons, Inc.**, United State, 1-8 (2003).
21. Sarıkaya, Y., "Adsorpsiyon", Fizikokimya 4th ed., **A.Ü. Fen Fakültesi**, Ankara, 633 (2003).
22. Ulman, A., "Formation and structure of self-assembled monolayers.", **Chemical Reviews**, 96:1533-1554 (1996).

23. Whitesides, G. M., Wilber, J. L., "Nanotechnology.", G. Timp, ed., **Springer-Verlag**, Germany, 334-336 (1999).
24. Estroff, A. L., Kribel, K. J., Love, C. J., Nuzzo, G. R., Whitesides, M. G., "Self-assembled monolayers of thiolates on metal as a form of nanotechnology.", **Chemical Review**, 105: 1103-1169 (2005).
25. Lewis, A. P., Smith, K. R., Weiss, S. P., "Patterning self-assembled monolayers.", **Progress in Surface Science**, 75: 1-68 (2004).
26. Motornov, M., Minko, S., Eichhorn, K.-J., Nitschke, M., Simon, F., Stamm, M., "Reversible Tuning of Wetting Behavior of Polymer Surface with Responsive Polymer Brushes", **Langmuir**, :19, 8077-8085 (2003).
27. Bialk, M., Prucker, O., Ruhe, J., "Grafting of polymers to solid surfaces by using immobilized methacrylates.", **Colloids and Surfaces**, 198-200: 543-549 (2002).
28. Retsos, H., Gorodyska, G., Kiriy, A., Stamm, M., Creton, C., "Adhesion between chemically heterogeneous switchable polymeric brushes and an elastomeric adhesive.", **Langmuir**, 21: 7722-7725 (2005).
29. Klep, V., Minko, S., Luzinov, I., "Mixed polymer layers by "grafting to"/"grafting from " combination.", **Polymeric Materials: Science & Engineering**, 89: 248-249 (2002).
30. Bult, A., van Bennekom, W. P., van Zuilen, S. J., Wink, Th., "Self-assembled monolayers for biosensors.", **The Analyst**, 122: 43-50 (1997).
31. Chesters, M., A., Somorjai, G., A., "Formation of monolayer films by the spontaneous assembly of organic thiols from solution onto gold.", **Surface Science**, 52: 21-28 (1975).
32. Allara, D. L., Nuzzo, R.G., "Adsorption of bifunctional organic disulfides on gold surfaces." , **Journal of American Chemical Society**, 105(13): 4481-4483 (1983).
33. Plueddemann, E. P., "Silane coupling agents.", 2nd ed., **Plenum Press**, New York and London,1 (1991).
34. Chidsey, E. D., Eisenberger, P. M., Fenter, P., Linford, M. R., "Alkyl monolayers on silicon prepared from 1-alkenes and hydrogen-terminated silicon.", **Journal of American Chemical Society**, 117: 3145-3155 (1995).

35. Maas, H. P. A., Meijer, G., Schoeman, M. G., Sieval, A. B., Sudhölter, E. J. R., Opitz, R., Vergeldt, F. J., Zuilhof, H., "Monolayers of 1-alkynes on H-terminated Si(100) surface.", *Langmuir*, 16: 10359-10368 (2000).
36. Bidlingmaier, B., Effenberger, F., Götz, G., Wezstein, M., "Photoactivated preparation and patterning of self-assembled monolayers with 1-alkenes and aldehydes on silicon hydride surfaces attachment by visible light.", *Angewandte Chemie International Edition*, 37: 2462-2464 (1998).
37. Cicero, R. L., Chidsey, C. E. D., Linford, M. R., "Photoreactivity of Unsaturated Compounds with Hydrogen-Terminated Silicon(111).", *Langmuir*, 16: 5688-5695 (2000).
38. Bain, C., D., "A new class of self-assembled monolayers: Organic thiols on gallium arsenide.", *Advanced Materials*, 4: 591-594 (1992).
39. Li, T. T. T., Weaver, M. J., "Intramolecular electron transfer at metal surfaces. 4. Dependence of tunneling probability upon donor-acceptor separation distance.", *Journal of American Chemical Society*, 106: 6107-6108 (1984).
40. Bain, C. D., Biebuyck, H. A., Whitesides, G. M., "Comparison of self-assembled monolayers on gold: coadsorption of thiols and disulfides.", *Langmuir*, 5: 723-727 (1989).
41. Allara, D. L., Bain, C. D., Nuzzo, R. G., Porter, M. D., Troughton, E. B., Whitesides, G. M., "Monolayer films prepared by the spontaneous self-assembly of symmetrical and unsymmetrical dialkyl sulfides from solution onto gold substrates: Structure, properties and reactivity of constituent functional groups.", *Langmuir*, 4: 365-385 (1988).
42. Wasserman, S. R., Whitesides, G. M., Tidwell, I. M., Ocko, B. M., Pershan, P. S., Axe, J. D., "The structure of self-assembled monolayers of alkylsiloxane on silicon: a comparison of results from ellipsometry and low-angle X-ray reflectivity.", *Journal of American Chemical Society*, 111: 5852-5861 (1989).
43. Linford, M. R., Chidsey, C. D. E., "Alkyl monolayers covalently bonded to silicon surfaces.", *Journal of American Chemical Society*, 115: 12631-12632 (1993).
44. Linford, M. R., Fenter, P., Eisenberg, P. M., Chidsey, C. E. D., "Alkyl monolayers on silicon prepared from 1. Alkenes and hydrogen-terminated silicon.", *Journal of American Chemical Society*, 117: 3145-3155 (1995).

45. Tiberio, R. C., Craighead, M. L., Lau, T., Sheen, C. W., Allara, D. L., "Self-assembled Monolayer electron beam resist on GaAs.", ***Applied Physics Letters***, 62: 476-478 (1993).
46. Fenter, P., Eisenberg, P., Li, J., Camillone, N., Bernasek, S., Scoles, G., Ramanarayanan, T.A., Liang, K. S., "Structure of octadecyl thiols self-assembled on the silver(111) surface", ***Langmuir***, 7: 2013-2016 (1991).
47. Walczak, M. M., Chung, C., Stole, S. M., Widrig, C.A., Porter, M. D., "Structure and interfacial of spontaneously adsorbed n-alkanethiolate monolayers on evaporated silver.", ***Journal of American Chemical Society***, 113: 2370-2378 (1991).
48. Laibinis, P. E., Whitesides, G. M., Allara, D. L., Tao, Y. T., Parikh, A. N., Nuzzo, R. G., "Comparison of the structures and wetting properties of self-assembled monolayers of n-alkanethiols.", ***Journal of American Chemical Society***, 113: 7152-7167 (1991).
49. Laibinis, P. E., Whitesides, G. M., "Omega terminated alkanethiolate monolayers on surfaces of copper, silver and gold have similar wettabilities.", ***Journal of American Chemical Society***, 114: 1990-1995 (1992).
50. Golden, W. G., Snyder, C. D., Smith B., "Infrared reflection-absorption spectra of ordered and disordered arachidate monolayers on aluminum.", ***Journal of Physical Chemistry***, 86: 4675-4678 (1982).
51. Allara, D. L., Nuzzo, R. G., "Spontaneously organized molecular assemblies. 1. Formation, dynamics and physical properties of n-alkanoic acid adsorbed from solution on an oxidized aluminum surface", ***Langmuir***, 1: 45-52 (1985).
52. Allara, D. L., Atre, S. V., Elliger, C. A., Snyder, R. G., "The formation of a crystalline monolayer of folded molecules by solution self-assembly of alpha, Omega, alkanedioic acids on silver.", ***Journal of American Chemical Society***, 113: 1852-1854 (1991).
53. Folkers, J. P., Garman, C. B., Laibinis, P. E., Buchholz, S., Whitesides, G. M., Nuzzo, R. G., "Self-assembled monolayers of long-chain hydroxamic acids on the native oxide of metals.", ***Langmuir***, 11: 813-824 (1995).
54. Hines, M. A., Todd, J. A., Guyot, S. P., "Conformation of alkanethiols on Au, Ag(111) and Pt(111) electrodes: A vibrational spectroscopy Study.", ***Langmuir***, 11: 493-497 (1995).

55. Lee, T. R., "Heterogeneous catalysis on platinum and self-assembled monolayers on metal and metal oxide surfaces.", ***Pure and Applied Chemistry***, 63: 821-828 (1991).
56. Putvinski, T. M., Schilling, M. L., Katz, E. H., Chidsey, C. E. D., Muijsce, A. M., Emerson, A. B., "self-assembly of organic multilayers with polar order using zirconium phosphate bonding between layers.", ***Langmuir***, 6: 1567-1571 (1990).
57. Katz, H. E., Scheller, G., Putvinski, T. M., Schilling, M. L., Wilson, W. L., Chidsey, C. E. D., "Polar orientation of dyes in robust multilayers by zirconium phosphate-phosphonate interlayers.", ***Science***, 254: 1485-1487 (1991).
58. Kleinfeld, E. R., Ferguson, G. S., "Stepwise formation of multilayered nanostructural films from macromolecular precursors.", ***Science***, 265: 370-373 (1994).
59. Netzer, L., Sagiv, J., "A new approach to construction of artificial monolayer assemblies.", ***Journal of American Chemical Society***, 105: 674-676 (1983).
60. Tillman, N., Ulman, A., Penner, T. L., "Formation of multilayers by self-assembly.", ***Langmuir***, 4:101-111 (1989).
61. Bain, C. D., Troughton, E. B., Tao, Y. T., Evall, J., Whitesides, G. M., Nuzzo, R. G., "Formation of monolayer films by the spontaneous assembly of organic thiols from solution onto gold.", ***Journal of American Chemical Society***, 111: 321-335 (1989).
62. Bryant, M. A., Pemberton, J. E., "Surface Raman scattering of self-assembled monolayers formed from 1-alkanethiols: behaviour of films at gold and comparison to films at silver.", ***Journal of American Chemical Society***, 113: 8284-8293 (1991).
63. Bryant, M. A., Pemberton, J. E., "Surface Raman scattering of self-assembled monolayers formed from 1-alkanethiols at silver [electrodes].", ***Journal of American Chemical Society***, 113: 3629-3637 (1991).
64. Chang, S. C., Chao, I., Tao, Y. T., "Structure of self-assembled monolayers of aromatic derivatized thiols on evaporated gold and silver surfaces: Implication on packing mechanism.", ***Journal of American Chemical Society***, 116: 6792-6805 (1994).

65. Chidsey, C. E. D., Loiacono, D. N., "Chemical functionality in self-assembled monolayers: Structural and electrochemical properties.", *Langmuir*, 6: 682-691 (1990).
66. Camillone, N., Eisenberg, P., Leung, T. Y. B., Schwartz, G., Poirier, G. E., Tarlov, M. J., "New monolayer phases of n-alkane thiols self assembled on Au (111): Preparation, surface characterization and imaging.", *Journal of Chemical Physics*, 101: 11031-11036 (1994).
67. Pişkin, E., "Sağlık için biyoteknoloji", *Biyotek*, 6: 1 (2002).
68. Bae, Y., Choi, J.-W., Lee, W. H., Oh, B.-K., "Study on orientation of immunoglobulin G on Protein G Layer.", *Biosensors Bioelectronics*, 21: 103-110 (2005).
69. Vashist, S. K., Raiteri, R., Tewari, R., Bajpai, R. P., Bharadwaj, L. M., "Quantification of human immunoglobulin G immobilized on gold-coated silicon chip for biosensing applications.", *Journal of Physics*, 34: 806-811 (2006).
70. Jung, S.-H., Son, H.-Y., Yuk, J. S., Jung, J.-W., Kim, K. H., Lee, C. H., Hwang, H., Ha, K.-S., "Oriented immobilization of antibodies by a self-assembled monolayer of 2-(biotinamido)ethanethiol for immunoarray preparation.", *Colloids and Surfaces: Biointerfaces*, 47: 107-111 (2006).
71. Yam, C. M., Pradier, C. M., Salmain, M., Marcus, P., Jaouen, G., "Binding of Biotin to Gold Surfaces Functionalized by Self-Assembled Monolayers of Cystamine and Cysteamine: Combined FT-IRRAS and XPS Characterization.", *Journal of Colloid and Interface Science*, 235: 183-189 (2001).
72. Ishizuka-Katsura, Y., Wazawa, T., Ban, T., Morigaki, K., Aoyama, S., "Biotin-containing phospholipid vesicle layer formed on self-assembled monolayer of a saccharide-terminated alkyl disulfide for surface plasmon resonance biosensing.", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105: 527-535 (2008).
73. Lee, G. U., Kidwell, D. A., Colton, R. J., "Sensing discrete streptavidin-biotin interactions with atomic force microscopy." *Langmuir*, 10: 354-357 (1994).
74. Baselt, D. R., Lee, G., Hansen K. M., Chrisey, L. A., Colton, R. J., "A high-sensitivity micromachined biosensor.", *Proceedings of The IEEE*, 85: 672-680 (1997).

75. Gonzalez, M., Bagatolli, L. A., Echabe, I., Arrondo, J. L. R., Argarana, C. E., Cantor, C. R., Fidelio, G. D., "Interaction of biotin with streptavidin.", *The Journal of Biological Chemistry*, 272: 11288-11294 (1997).
76. Holmberg, A., Blomstergren, A., Nord, O., Lukacs, M., Lundeberg, J., Uhlen, M., "The biotin-streptavidin interaction can be reversibly broken using water at elevated temperatures.", *Electrophoresis*, 26: 501-510 (2005).
77. Çaykara, T., "Trietoksi vinil silan-metil metakrilat kopolimerlerinin sentezi ve karakterizasyonu", Doktora Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 11 (1996).
78. Binning, G., Quate, C.F., Gerber, Ch., "Atomic force microscope", *Physics Review Letters*, 56: 930 (1986).
79. Çınar, M. O., Ülgen, Ş. D., Çubukçu, E., Koçum, İ. C., "Molekül algılama amaçlı atomik kuvvet mikroskobu tasarımı ve üretilmesi" *Biyomedikal Mühendisliği Ulusal Toplantısı, BİYOMUT*, İstanbul, 230-234 (2005).
80. Humphris, A. D. L. , Miles, M. J. , Hobbs, J. K. , "A mechanical microscope: High-speed atomic force microscopy" , *Applied Physics Letters* , 86: 34106-34106.3 (2005).
81. Harada, Y., Kuroda, M., Ishida, A., "Specific and quantized antigen-antibody interaction measured by atomic force microscopy", *Langmuir*, 16: 708-715 (2000).
82. Wu,G., Datar, R. H., Hansen, K. M., Thundat, T., Cote, R. J., Majumdar, A., "Bioassay of prostate-specific antigen (PSA) using microcantilevers.", *Nature Biotechnology*, 19: 856-860 (2001).
83. Stuart, J. K., Hlady, V., "Reflection interference contrast microscopy combined with scanning force microscopy verifies the nature of protein-ligand interaction force measurements", *Biophysical Journal*, 76: 500-508 (1999).
84. Lo, Y.-S., Simons, J., Beebe,T. P. Jr., "Temperature dependence of individual ligand-receptor bond-rupture forces studied by atomic force microscopy." , *Journal of Physical Chemistry* , 106: 9847-9852 (2002).
85. Burtchagousky, E.G., "Ellipsometric method for investigation of the optical anizotropy of thin films: Theory and Calculations", *Thin Solid Films*, 307: 192-199 (1997).

86. Jung, G., Jahne, E., "Optical properties of film-substrate systems with an anisotropic, spatially varying dielectric function of the surface layer.", ***Thin Solid Films***, 348: 279-284 (1999).
87. Kavcar, N., "İnce filmlerde optik yöntemlere kısa bir bakış", ***Cumhuriyet Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi***, Sivas, 3: 177-190 (1985).
88. Çelik, G., "İnce filmlerin optik özelliklerinin elipsometrik yöntemle tayini", Yüksek Lisans Tezi, ***Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, Konya, 16-18 (2000).
89. Yücel, B. M., " Film örnekleri üzerinde zamanla kendiliğinden oluşan yüzey katmanlarının elipsometrik yöntemle incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, ***Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, Sivas, 21-23 (1992).
90. Çelik, G., Şafak, H., "Bir cam malzemenin kırılma indisinin elipsometrik yöntemle belirlenmesi", ***Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi 20***, Konya, 39-47 (2002).
91. Almeida, A. T., Salvadori, M. C., Petri, D. F. S., "Enolase adsorption onto hydrophobic and hydrophilic solid substrates", ***Langmuir***, 18: 6914-6920 (2002).
92. Ulman, A., "The disulfide linkage breaks upon self-assembly to give virtually identical SAMs as those formed from 1- undecanethiol, except self-assembly occurs at a slower rate than thiols in competitive adsorption experiments", ***Chemical Review***, 96: 1533-1554 (1996).
93. Yam, C.-M., Pradier, C.-M., Salmay, M., Marcus, P., Jaouen, G., "Binding of biotin to gold surfaces functionalized by self-assembled monolayers of cystamine and cysteamine: Combined FT-IRRAS and XPS characterization.", ***Journal of Colloid and Interface Science***, 235: 183-189 (2001).
94. Aurou, P. A., Iossifidis, D., Reyes, D. R., Manz, A., "Micro total analysis systems. 2. Analytical Standard operations and applications", ***Analytical Chemistry***, 74: 2637-2652 (2002).
95. McDonald, J. C., Whitesides, G. M., "Poly(dimethylsiloxane) for fabrication microfluidic devices", ***Accounts of Chemical Research***, 35: 491-499 (2002).
96. McDonald, J. C., Duffy, D. C., Anderson J. R., Chiu, D. T., Wu, H., Schueller, A., Whitesides, G. M., "Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane)", ***Electrophoresis***, 21: 27-40 (2000).

97. Belanger, M.-C., Marois, Y., "Hemocompatibility, biocompatibility, inflammatory and *in vivo* studies of primary reference materials low-density polyethylene and polydimethylsiloxane: A review.", ***Journal of Biomedical Materials Research: Applied Biomaterials***, 58: 467-477 (2001).
98. Shih, T. K., Ho, J. R., Chen, C. F., Whang, W. T., Chen, C. C., "Topographic control on silicone surface using chemical oxidization method", ***Applied Surface Science***, 253: 9381-9386 (2007).
99. Thangawng, A. L., Swartz, M. A., Glucksberg, M. R., Ruoff, R. S., "Bond-detach lithography: A method for micro/nanolithography by precision PDMS patterning", ***Lithographic Techniques***, 1: 132-138 (2007).
100. van Poll, M. L., Zhou, F., Ramstedt, M., Hu, L., Huck, W. T. S., "A self-assembly approach to chemical micropatterning of poly(dimethylsiloxane).", ***Angewandte Chemie International Edition***, 46: 6634-6637 (2007).
101. Gargas, D. J., Muresan, O., Sirbuly, D. J., Buratto, S. K., "Micropatterned porous-silicon bragg mirrors by dry-removal soft lithography.", ***Advanced Materials***, 18: 3164-3168 (2006).
102. Xia, B., Xiao, S., Wang, J., Guo, D., "Stability improvement of porous silicon surface structures by grafting polydimethylsiloxane polymer monolayers", ***Thin Solid Films***, 474: 306-309 (2005).
103. Landherr, L. J. T., Zhang, Q., Cohen, C., Archer, L. A., "Interfacial friction of thin PDMS network films.", ***Journal of Polymer Science***, 46:1773-1787 (2008).
104. Wu, N., Zheng, A., Huang, Y., Liu, H., "Morphology of poly(styrene-block-dimethylsiloxane) copolymer films.", ***Journal of Applied Polymer Science***, 104: 1010-1018 (2007).
105. Doms, M., Feindt, H., Kuipers, W. J., Shewtanasoontorn, D., Matar, A. S., Brinkhues, S., Welton, R. H., Mueller, J., "Hydrophobic coatings for MEMS applications.", ***Journal of Micromechanics And Microengineering***, 18: 12 (2008).
106. Kluth, G. J., Sung, M., Maboudian, R., "Thermal behaviour of alkylsiloxane self-assembled monolayers on the oxidized Si(100)", ***Langmuir***, 13: 3775-3780 (1997).

107. Janssen, D., Palma, R., Verlaak, S., Heremans, P., Dehaen, W., "Static solvent contact angle measurements, surface free energy and wettability determination of various self-assembled monolayers on silicon dioxide.", ***Thin Solid Films***, 515:1433-1438 (2006).
108. Jo, B. H., van Lerberghe, L. M., Motsegood, K. M., Bebe, D. J., "Three-dimensional micro-channel fabrication in poly (dimethylsiloxane) (PDMS) elastomer", ***Journal of Microelectromechanical Systems***, 9: 76-81 (2000).
109. Bhushan, B., Hansford, D., Lee, K. K., " Surface modification of silicon and polydimethylsiloxane surfaces with vapor-phase-deposited ultrathin fluorosilane film for biomedical nanodevices", ***The Journal of Vacuum Science and Technology***, 24: 1197-1202 (2006). ,
110. Schwartz, L. W., Garoff, S., "Contact angle hysteresis on heterogeneous surfaces.", ***Langmuir***, 1: 219-230 (1985).
111. Wang, J.-H., Claesson, P.M., Parker, J. L., Yasuda, H., "Dynamic contact angles and contact angle hysteresis of plasma polymers", ***Langmuir***, 10, 3887-3897 (1994).
112. Johnson, R. E., Dettre, R. H., "Dynamic contact angles and contact angle hysteresis.", ***The Journal of Colloid and Interface Science***, 62: 205-212 (1977).
113. Drelich, J., "Static contact angles for liquids at heterogeneous solid surfaces.", ***Polish Journal of Chemistry***, 71: 525-549 (1997).
114. Zhu, S.-H., Tzoganakis, C., "Surface properties of hydrosilylated polyolefins annealed in supercritical carbon dioxide.", ***Polymers For Advanced Technologies***, 19: 258-269 (2008).
115. Wang, A., Tang, H., Cao, T., Salley, S. O., Simon K. Y., "In vitro stability of organosilane self-assembled monolayers and multiplayers", ***Journal of Colloid and Interface Science***, 291: 438-447 (2005).
116. Sinha, S. K., Satyanarayana, N., Shen, L., "Effect of molecular structure on friction and wear of polymer thin films deposited on Si surface.", ***Tribology Letters***, 28: 71-80 (2007).
117. Ionov, L., Zdyrko, B., Sidorenko, A., Minko, S., Klep, V., Luzinov, I., Stamm, M., " Gradient polymer layers by "grafting to" approach", ***Macromolecular Rapid Communications***, 25: 360-365 (2004).

118. Jang, L.-S., Keng, H.-K., Hsu, Y.-C., Meldrum, D. R., "Development of protein chips based on self-assembled monolayer and Protein A.", **IEEE International Symposium on Circuits and Systems, ISCAS**, 4353-4358 (2006).
119. Demirel, G., Çaykara, T., Akaoğlu, B., Çakmak, M., "Construction of a novel multilayer system and its use for oriented immobilization of immunoglobulin G.", **Surface Science**, 601: 4563-4570 (2007).
120. Demirel, G., Çağlayan, M. O., Garipcan, B., Duman, M., Pişkin, E., "Oriented immobilization of IgG on hydroxylated Si(001) surfaces via protein-A by a multiple-step process based on a self-assembly approach", **Journal of Materials Science**, 42: 9402-9408 (2007).
121. Zhang, F., srinivasan, M. P., "Self-assembled molecular films of aminosilanes and their immobilization capacities.", **Langmuir**, 20:2309-2314 (2004).
122. Jung, A., Wolters, B., Berlin, P., "(Bio)functional surface structural design of substrate materials based on self-assembled monolayers from aminocellulose derivatives and amino(organo)polysiloxanes.", **Thin Solid Films**, 515: 6867-6877 (2007).
123. Rahman, M., Day, B. S., Cao, H., Butts, H., Norton, M. L., "Ordered DNA Arrays Prepared Via Soft Lithography Techniques.", **Proceedings of SPIE**, 6370: 637012 (2006).
124. Tero, R., Misawa, N., Watanabe, H., Yamamura, S., Nambu, S., Nonogaki, Y., Urisu, T., "Fabrication of avidin single molecular layer on silicon oxide surfaces and formation of tethered lipid bilayer membranes.", **e-Journal of Surface Science and Nanotechnology**, 3: 237-243 (2005).
125. Guo, D., McNally, H., Pingle, M., Bergstrom, D., Bashir, R., "A New Protein Patterning Technique And Its Application In Bio-Inspired Self-Assembly.", **Materials Research Society Symposium Proceedings**, 735: 3-8 (2003).
126. Lee, K. G., Pillai, S. R., Singh, S. R., Willing, G. A., "The investigation of Protein A and salmonella antibody adsorption onto biosensor surfaces by atomic force microscopy.", **Biotechnology and Bioengineering**, 99: 949-959 (2008).
127. Follstaedt, S. C., Last, J. A., Cheung, D. K., Gourley, P. Y., Sasaki, D. Y., "Protein Adhesion on SAM Coated Semiconductor Wafers: hydrophobic Versus Hydrophilic Surfaces", **Sandia Report**, 3016 (2000).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : VAKIFLI, Ayşe
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 11.10.1983, Ankara
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (312) 389 24 10
e-mail : aysevakifli@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Gazi Üniversitesi/Kimya Bölümü	2006
Lise	Ankara Başkent Lisesi	2000

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

İnternet, Gezi, Teknoloji, Resim, Sinema, Strateji Oyunları