



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



# BİYOMOLEKÜLER ETKİLEŞİME YÖNELİK ELEKTROKİMYASAL NÜKLEİK ASİT BİYOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Ece KESİCİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

İzmir  
2019



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**BİYOMOLEKÜLER ETKİLEŞİME YÖNELİK  
ELEKTROKİMYASAL NÜKLEİK ASİT BİYOSENSÖRLERİN  
GELİŞTİRİLMESİ**

Ece KESİCİ

Danışman: Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Yüksek Lisans Programı

İzmir

2019




Ece KESİCİ tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Biyomoleküler Etkileşime Yönelik Elektrokimyasal Nükleik Asit Biosensörlerin Geliştirilmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 31.07.2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday **oybirliği / oyçokluğu** ile başarılı / ~~başarısız~~ bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**Jüri Başkanı** : Prof.Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN  
**Raportör Üye** : Prof.Dr. Fatma YURT ONARAN  
**Üye** : Doç.Dr. Süleyman KOÇAK

**İmza**





## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Biyomoleküler Etkileşime Yönelik Elektrokimyasal Nükleik Asit Biyosensörlerin Geliştirilmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

22.10.2019



Ece KESİCİ





**ÖZET**  
**BİYOMOLEKÜLER ETKİLEŞİME YÖNELİK**  
**ELEKTROKİMYASAL NÜKLEİK ASİT BİYOSENSÖRLERİN**  
**GELİŞTİRİLMESİ**

KESİCİ, Ece

Yüksek Lisans Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışmanı: Prof. Dr. K. Arzum ERDEM GÜRSAN

Haziran 2019, 102 sayfa

Tez çalışmamızın ilk kısmında, nükleik asit hibridizasyonuna dayalı biyomoleküler etkileşimden yola çıkılarak mikroRNA tayininin daha hassas ve duyarlı bir şekilde, daha hızlı, pratik ve düşük maliyetle yapılabileceği elektrokimyasal biyosensörlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu doğrultuda tek kullanımlık kalem grafit elektrot (PGE) yüzeyi, kovalent bağlacıyı ajan (CA) ve iyonik sıvı (IL) ile modifiye edilerek kanser ve birçok hastalığın teşhisinde önemli bir biyobelirteç olarak tanımlı mikroRNA-34a tayinine yönelik bir biyosensör (IL-CA-PGE) geliştirilmiştir. Sensörün mikroskobik yüzey karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM), elektrokimyasal karakterizasyonu ise elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve dönüşümlü voltametri (CV) yöntemleri ile yapılmıştır. IL-CA-PGE yüzeyine immobilize edilecek DNA prob konsantrasyonu, miRNA-34a hedef konsantrasyonu, hibridizasyon süresi ve oluşan hibritin elektrot yüzeyine immobilizasyon süresi EIS tekniği ile optimize edilmiştir. DNA probu ve mikroRNA-34a hedef arasında hibrit oluşumuyla biyomoleküler etkileşime dayalı mikroRNA-34a tayini EIS tekniği ile yüzeydeki direnç farklanması izlenerek gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, geliştirilen biyosensörün uygulanabilirliğinin incelenmesi amacıyla yapay serum ortamında (FBS) miRNA tayini yapılmıştır. Farklı mikroRNA dizileri varlığında ise biyosensörün seçiciliği tampon çözeltisi ve FBS ortamında test edilmiştir.

Tez çalışmamızın ikinci bölümünde, bir mikotoksin olan Fumonisin B1 (FB1) ile çift sarmal DNA'nın etkileşimini incelemek amacıyla PGE kullanılmıştır.

Literatürde ilk kez FB1'in DNA ile etkileşimi elektrot yüzeyinde EIS tekniği kullanılarak incelenmiştir. DNA konsantrasyonu, FB1 konsantrasyonu ve etkileşim süresi empedimetrik yöntemle optimize edilmiştir DNA biyosensörünün FB1'e seçimliliği farklı mikotoksinlerin; Zearalenon (ZEN), Deoksivinalenol (DON), Okratoksin A (OTA)'nın oranındaki karışım ortamlarında test edilmiştir.

Biyomoleküler etkileşimlerin tek kullanımlık elektrokimyasal biyosensörlerle algılanmasına yönelik tez çalışmasında daha duyarlı ve seçimli bir şekilde tekrarlanabilir sonuçlar elde edilmesi gelecekte farklı miRNA ve toksin analizlerinin güvenle yapılabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Nükleik asit hibridizasyonu, miRNA, mikotoksin, Fumonisin B1, toksin-DNA etkileşimi, elektrokimyasal empedans spektroskopisi.

**ABSTRACT**  
**DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL NUCLEIC ACID**  
**BIOSENSORS FOR BIOMOLECULAR INTERACTIONS**

KESİCİ, Ece

MSc in Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. K. Arzum ERDEM GÜRSAN

June 2019, 102 pages

In the first part of this study, in order to develop electrochemical biosensors in which the determination of microRNA can be performed more quickly, practically and with low cost by means of biomolecular interaction based on nucleic acid hybridization. A novel biosensor was developed for the determination of microRNA-34a as a major biomarker in the diagnosis of cancer and many diseases by modifying the surface of disposable pencil graphite electrode (PGE) via covalent agent (CA) and ionic liquid (IL). Microscopic characterization of sensor surface was done by scanning electron microscopy (SEM) and electrochemical characterization by electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and cyclic voltammetry (CV) methods. DNA probe concentration, probe immobilization time on to electrode surface, miRNA-34a target concentration, hybridization time and immobilization time for hybrid onto the electrode surface were optimized by using EIS technique. Detection of miRNA-34a based on biomolecular interaction after hybrid formation between the DNA probe and miRNA-34a target was performed by monitoring the charge transfer resistance ( $R_{ct}$ ) by EIS technique. In order to investigate the applicability of the developed biosensor, miRNA detection was also performed in artificial serum medium (FBS). The selectivity of impedimetric biosensor to miRNA-34a was also tested in the presence of other non-complementary miRNA sequences both in buffer media, or diluted FBS.

In the second part of this study, PGE was used to investigate the biointeraction of mycotoxin, Fumonisin B1 (FB1) with double helix DNA for the first time in the literature by using EIS technique. DNA concentration, FB1 concentration and interaction time etc. were optimized. The interaction of FB<sub>1</sub> with dsDNA was also tested in the mixture (1:1) of other mycotoxins, such as Zearalenone (ZEN),

Deoxyvinalenol (DON), Ochratoxin A (OTA) for testing the selectivity of impedimetric biosensor to FB1.

Biomolecular interactions based on single-use electrochemical biosensors in this study conducted with a more sensitive, rapid and selectively reproducible results can be obtained by analyzing the determination of different types of miRNAs and toxins in the future.

**Keywords:** Nucleic acid hybridization, miRNA, mycotoxin, Fumonisin B1, toxin-DNA interaction, electrochemical impedance spectroscopy.



## ÖNSÖZ

Biyosensörler ve geliştirilen çip teknolojileri biyomedikal, tıp, gıda, eczacılık, tarım, çevre kirliliği, savunma, biyoteknoloji ve birçok endüstriyel aktivitede özellikle kalite kontrolü, otomasyon ve durum tespitinde çok önemli rol oynarlar. Tez çalışmamızın ilk kısmında geliştirilen biyosensör ile başta kanser olmak üzere birçok hastalığın teşhisinde önemli bir role sahip olan mikroRNA-34a'nın hızlı, seçimli ve güvenilir bir şekilde tayini gerçekleştirilmiştir. Klinik anlamda, geliştirdiğimiz biyosensör temel alınarak gelecekte üretilebilecek çip teknolojileri ile hastalıkların erken teşhisinin sağlanabilecek olması oldukça umut vericidir.

Çalışmamızın ikinci kısmında ise insanlar üzerinde ölümcül etkiye sahip ve gıda güvenliğinin izlenmesinde önemli bir mikotoksin olan Fumonisin B1'in DNA ile etkileşimi elektrokimyasal olarak incelenmiştir. Geliştirdiğimiz biyosensör teknolojisi, mikotoksinin DNA üzerine etkisinin elektrokimyasal olarak incelenmesine olanak sağlamasıyla bu alandaki çalışmalar için bir yenilik niteliğindedir.

Son derece duyarlı bir işleyişe sahip olan biyolojik sistem ile teknolojinin birlikteliğinin ürünü olan biyosensörler günümüzde heyecan verici bir düzeydedir. Her gün daha da gelişen bu alanda çalışmama olanak sağlayan, bu tezin hazırlanmasında bilgi ve ilgisiyle her zaman destek veren saygı değer danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

İzmir

Ece KESİCİ

31 Temmuz 2019



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xixii
TABLolar DİZİNİ.....	xxv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxiv
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Elektrokimya.....	5
2.1.1. Elektrokimyasal Tabakalar.....	6
2.1.2. Voltametri ve Esasları.....	7
2.1.3. Voltametri de Kullanılan Uyarma Sinyalleri.....	8
2.1.4. Voltametrik Cihazlar.....	9
2.1.5. Voltametri de Kullanılan Referans Elektrotlar.....	9
2.1.6. Voltametri de Kullanılan Yardımcı Elektrotlar.....	11
2.1.7. Voltametri de Kullanılan Çalışma Elektrotları.....	11
2.1.8. Voltamogramlar.....	13
2.1.9. Voltametrik Akımlar.....	14
2.1.10. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) ve Esasları.....	15
2.2. Biyosensörler.....	16
2.2.1. Biyosensörlerin Sınıflandırılması.....	18
2.2.2. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri.....	19
2.2.3. Biyosensör Uygulamaları.....	20
2.2.4. Biyosensör Geliştirilirken Kullanılan Moleküller ve Yapıları.....	20
2.2.5. DNA Biyosensörleri.....	24
2.2.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	24
2.2.7. İyonik Sıvıların Biyosensörlerde Kullanımı.....	25
2.3. MikroRNA.....	26
2.3.1. MikroRNA Tayinine Yönelik Elektrokimyasal Biyosensörler.....	27
2.4. Mikotoksinler ve Fumonisin B1.....	29

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.4.1. Fumonisin B1 Tayinine Yönelik Biyosensörler.....	30
2.4.2. DNA Hedefli Türlerin DNA Biyoensörleri ile Algılanması.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Kullanılan Cihazlar.....	33
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	33
3.2.1. Fumonisin B1 hakkında genel bilgi.....	35
3.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı.....	36
3.3.1 Tampon Çözeltilerin Hazırlanışı.....	36
3.3.2. miRNA, DNA ve Oligonükleotit Çözeltilerinin Hazırlanışı.....	37
3.3.3. Yapay Fetal Sığır Serumunun Hazırlanışı.....	37
3.3.4. Fumonisin B1 ve Diğer Mikotoksinlerin Hazırlanışı.....	37
3.3.5. Kullanılan Tek Kullanımlık Kalem Grafit Elektrodun (PGE) Hazırlanışı.....	37
3.3.6. Kalem Grafit Elektrot Modifikasyonunda Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı.....	38
3.3.7. Dönüşümlü Voltametri (CV) Ölçümleri.....	38
3.3.8. Empedans (EIS) Ölçümleri.....	38
3.4. İyonik Sıvı ile Modifiye Edilmiş Kalem Grafit Elektrotlarla miRNA-34a'nın Empedimetrik Tayini.....	38
3.4.1. Kalem Grafit Elektrotların (PGE) Yüzeyine Kovalent Bağlayıcı Ajan-İyonik Sıvı Modifikasyonu.....	39
3.4.2. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesi.....	40
3.4.3. PGE-CA Yüzeyine Modifiye Edilen IL Konsantrasyonundaki Değişimin Yanıtta Olan Etkisinin İncelenmesi.....	40
3.4.4. IL Modifikasyon Süresindeki Değişimin Yanıtta Olan Etkisinin İncelenmesi.....	40
3.4.5. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerine miRNA-34a Prob İmmobilizasyonunun Empedimetrik Yöntemle İncelenmesi.....	40
3.4.6. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin SEM ile Karakterizasyonu.....	39
3.4.7. miRNA-34a Prob Dizisi Konsantrasyonundaki Değişimin Yanıtta Etkisinin İncelenmesi.....	41
3.4.8. miRNA-34a Prob ve Hedef Dizi Arasındaki Hibridizasyon Süresindeki Değişimin Yanıtta Olan Etkisinin İncelenmesi.....	41



## İÇİNDEKİLER (devam)

### Sayfa

3.4.9. IL-CA-PGE Yüzeyine Hibritin Pasif Adsorpsiyon ile İmmobilizasyon Süresindeki Değişimin Yanıtta Olan Etkisinin İncelenmesi.....	42
3.4.10. Hedef miRNA-34a Konsantrasyonundaki Değişimin Hibridizasyon Yanıtına Olan Etkisinin İncelenmesi.....	42
3.4.11. miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışması.....	42
3.4.12. Yapay Fetal Sığır Serumun Seyreltilme Oranının Çalışılması.....	43
3.4.13. Yapay Fetal Sığır Serum Ortamında Hedef miRNA-34a Konsantrasyonu Çalışması.....	43
3.4.14. Yapay Fetal Sığır Serum Ortamında miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışması.....	43
3.5. DNA İmmobilize Edilmiş Kalem Grafit Elektrot Yüzeyinde Fumonisin-B1-DNA Etkileşiminin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesi.....	44
3.5.1. DNA Konsantrasyonu Çalışması.....	44
3.5.2. Fumonisin-B1 Konsantrasyon Çalışması.....	44
3.5.3. PGE, DNA-PGE, FB1-PGE ve FB1-DNA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesi.....	45
3.5.4. Etkileşim Süresindeki Değişimin Biyosensörün Yanıtına Etkisinin İncelenmesi.....	45
3.5.5. Farklı Mikotoksinler Varlığında Seçimlilik Çalışması.....	45
4. BULGULAR.....	47
4.1.IL-CA Modifiye PGE ile miRNA-34a'nın Empedimetrik Tayinine İlişkin Bulgular.....	47
4.1.1. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesi.....	47
4.1.2. PGE, CA-PGE ve Farklı Konsantrasyonlarda IL Modifiye Edilmiş IL-CA-PGE Yüzeylerinin CV Tekniği ile Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi.....	48
4.1.3. IL Modifikasyon Süresinin Yanıtta Olan Etkisinin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesi .....	50
4.1.4. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerine miRNA-34a Prob İmmobilizasyonunun Empedimetrik Yöntemle İncelenmesi.....	50

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.1.5. PGE, CA-PGE, IL-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin SEM ile Karakterizasyonuna Yönelik Bulgular.....	49
4.1.6. miRNA-34a Prob Dizisi Konsantrasyonundaki Değişimin Yanıtta Olan Etkisinin İncelenmesi.....	50
4.1.7. Hibridizasyon Süresindeki Değişimin Yanıtta Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular.....	53
4.1.8. IL-CA-PGE Yüzeyine Hibritin Pasif Adsorpsiyon ile İmmobilizasyon Süresindeki Değişimin Yanıtta Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular.....	54
4.1.9. Hedef miRNA-34a Konsantrasyonundaki Değişimin Hibridizasyon Yanıtına Olan Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular .....	55
4.1.10. miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular.....	56
4.1.11. Farklı Seyreltme Oranlarında Hazırlanmış Yapay Serum Ortamının Empedimetrik Davranışının İncelenmesi .....	57
4.1.12. Yapay Serum Ortamında Hedef miRNA-34a Konsantrasyonu Çalışmasına Yönelik Bulgular.....	58
4.1.13. Yapay Serum Ortamında miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular.....	59
4.2. DNA İmmobilize Edilmiş Kalem Grafit Elektrot Yüzeyinde Fumonisin B1-DNA Etkileşiminin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesine İlişkin Bulgular.....	60
4.2.1. DNA Konsantrasyon Çalışmasına Yönelik Bulgular.....	60
4.2.2. Fumonisin B1 Konsantrasyon Çalışmasına Yönelik Bulgular.....	62
4.2.3. PGE, DNA-PGE, FB1-PGE ve FB1-DNA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesine Yönelik Bulgular.....	63
4.2.4. Fumonisin B1-DNA Etkileşim Süresindeki Değişimin Biyosensörün Yanıtına Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular.....	64
4.2.5. Farklı Mikotoksinler Varlığında Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular.....	65
5. TARTIŞMA.....	67
5.1.IL-CA Modifiye PGE ile miRNA-34a Tayinine Yönelik Biyosensörlerin Tasarımı ve Uygulamalarına İlişkin Bulgular ile İlgili Tartışma.....	67

## İÇİNDEKİLER (devam)

### Sayfa

5.1.1. PGE,CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesine Ait Bulgular ile İlgili Tartışma.....	67
5.1.2. PGE,CA-PGE ve Farklı Konsantrasyonlarda IL Modifiye Edilmiş IL-CA-PGE Yüzeylerinin CV Tekniği ile Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Ait Bulgular ile İlgili Tartışma.....	67
5.1.3. IL Modifikasyon Süresindeki Değişimin Yanıt Olan Etkisinin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesine Ait Bulgular ile İlgili Tartışma.....	68
5.1.4. IL-CA-PGE Yüzeylerine miRNA-34a Prob İmmobilizasyonunun Empedimetrik Yöntemle İncelenmesine Ait Bulgular ile İlgili Tartışma.....	69
5.1.5. PGE,CA-PGE, IL-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin SEM ile Karakterizasyonuna Yönelik Tartışma.....	70
5.1.6. miRNA-34a Prob Dizisi Konsantrasyonundaki Değişimin Yanıt Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	70
5.1.7. Hibridizasyon Süresindeki Değişimin Yanıt Olan Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	69
5.1.8. IL-CA-PGE Yüzeyine Hibritin Pasif Adsorpsiyon ile İmmobilizasyon Süresindeki Değişimin Yanıt Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	69
5.1.9. Hedef miRNA-34a Konsantrasyonundaki Değişimin Hibridizasyon Yanıtına Olan Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma .....	72
5.1.10. miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	72
5.1.11. Farklı Seyreltme Oranlarında Hazırlanmış Yapay Serum Ortamının Empedimetrik Davranışının İncelenmesine Yönelik Tartışma.....	74
5.1.12. Yapay Serum Ortamında hedef miRNA-34a Konsantrasyonu Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	75
5.1.13. Yapay Serum Ortamında miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	75
5.2. DNA İmmobilize Edilmiş Kalem Grafit Elektrot Yüzeyinde Fumonisin B1-DNA Etkileşiminin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesine İlişkin Tartışma .....	76
5.2.1. DNA Konsantrasyon Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	76
5.2.2. Fumonisin B1 Konsantrasyon Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma .....	76

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
5.2.3. PGE, DNA-PGE, FB1-PGE ve FB1-DNA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	79
5.2.4. Fumonisin B1-DNA Etkileşim Süresindeki Değişimin Biyosensörün Yanıtına Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	80
5.2.5. Farklı Mikotoksinler Varlığında Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	80
6. SONUÇLAR.....	84
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	86
TEŞEKKÜR.....	100
ÖZGEÇMİŞ.....	101

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Üçlü elektrot sisteminin şematize edilmesi. ....	5
2.2. Elektrot yüzeyinde oluşan tabakaların şematik olarak gösterilmesi.....	6
2.3. Voltametri de kullanılan uyarma sinyallerinin şematize edilmiş hali. ....	8
2.4. Kalem grafit elektrot.....	12
2.5. Bir elektrokimyasal hücrede empedimetrik ölçüm sonrasında oluşan Nyquist eğrisi .....	15
2.6. Biyosensörün temel çalışma prensibi. ....	17
2.7. Biyosensörlerin sınıflandırılması.....	18
2.8. DNA'nın çift sarmal yapısı.....	21
2.9. Nükleik asit hibridizasyonu. ....	23
3.1.miRNA-34a'nın IL-CA-PGE ile empedimetrik tayinine yönelik deneysel prosedür: (i) PGE'nin elektrokimyasal olarak yüzey aktivasyonu, (ii) EDC/NHS ile yüzeyin kovalent aktivasyon, (iii) CA-PGE yüzeyine IL modifikasyonu, (iv) IL-CA-PGE'nin mikroskopik karakterizasyonu, (v) miRNA-34a DNA prob dizisi ile miRNA-34a hedef dizisi arasında hbridizasyonun gerçekleşmesi, (vi) IL-CA-PGE yüzeyine hibritin immobilizasyonu, (vii) hibrid modifiye IL-CA-PGE ile EIS yöntemi kullanılarak empedimetrik ölçümün gerçekleştirilmesi.....	38
3.2.PGE yüzeyinde FB1 ile DNA'nın etkileşiminin empedimetrik tayinine yönelik deneysel prosedür: (a) DNA modifiye PGE, (b) FB1 ile DNA'nın PGE yüzeyinde etkileşimi sonrası. ....	44

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. (A) (a) PGE, (b) CA-PGE, (c)IL-CA-PGE' ait Nyquist diyagramları. (B) (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) IL-CA-PGE ile ölçülen ortalama Rct değerlerini (n = 3) gösteren histogramlar.....	47
4.2. (A) (a) PGE (b) CA-PGE, (c) %10 (d) %20 (e) %30 IL modifiye CA-PGE ile elde edilen voltamogramlar.(B) (a) PGE, (b) CA/PGE, (c) %5, (d) %10, (e) %15, (f) %20, (g) %25, (h) %30 IL modifiye CA-PGE ile ölçülen ortalama Ia verilerine (n=3) göre elde edilen histogramlar.....	46
4.3. (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) 15 dk, (d) 30 dk, (e ) 60dk süreyle %20 IL modifiye edilmiş CA-PGE' ye ait (A) Nyquist diyagramları, (B) Ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.....	48
4.4. (a) PGE, (a') miRNA-34a prob immobilize edilen PGE, (b) CA-PGE, (b') Prob immobilize CA-PGE, (c) IL-CA-PGE, (c') Prob immobilize IL-CA-PGE. İç şekil: (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) IL-CA-PGE'ye prob bağlanmasıyla hesaplanan $\theta_{IS_R}^{IS}$ değerleri. ....	49
4.5. (A) PGE, (B) CA-PGE, (C) IL-PGE, (D) IL-CA-PGE yüzeylerinin sırasıyla (a) 50 $\mu$ m, (b) 10 $\mu$ m ve (c) 5 $\mu$ m çözünürlüklerinde 5.0 kV hızlandırma potansiyle elde edilen SEM görüntüleri. ....	50
4.6. (A) (a) CA-PGE, (b) IL-CA-PGE, (c) yüzeyine 1 $\mu$ g/mL miRNA-34a prob ve 10 $\mu$ g/mL miRNA-34a hedef ile elde edilen hibrid modifiye IL-CA-PGE'ye ait Nyquist diyagramları. (B) (a) CA-PGE, (b) IL-CA-PGE, yüzeyine farklı prob konsantrasyonlarında (c) 0,5 $\mu$ g/mL (d) 1 $\mu$ g/mL (e) 1.5 $\mu$ g/mL miRNA-34a prob ve 10 $\mu$ g/mL miRNA-34a hedef ile oluşturulan hibrid modifiye IL-CA-PGE ile ölçülen ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar. ....	51

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.7. (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) IL-CA-PGE, IL-CA-PGE elektrotlar kullanılarak 1 µg/mL miRNA-34 prob ile 10 µg/mL miRNA-34a arasında 5 dakika hibridizasyon ile (d) yalancı hibridizasyon, (d') hibridizasyon, 15 dakika hibridizasyon ile (e) yalancı hibridizasyon, (e') hibridizasyon, 30 dakika hibridizasyon ile (f) yalancı hibridizasyon, (f') hibridizasyon sonucunda ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.....	52
4.8. (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) IL-CA-PGE, IL-CA-PGE elektrotlar kullanılarak 1 µg/mL miRNA-34 prob ile 10 µg/mL miRNA-34a arasında oluşan hibritin 5 dk yüzeye immobilizasyonu ile (d) yalancı hibridizasyon, (d') hibridizasyon, 15 dakika yüzeye immobilizasyonu ile (e) yalancı hibridizasyon, (e') hibridizasyon, 30 dakika immobilizasyonu ile (f) yalancı hibridizasyon, (f') hibridizasyon, 45 dakika immobilizasyonu ile (g) yalancı hibridizasyon, (g') hibridizasyon sonucunda ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar. 52	52
4.9. (A) (a) 1 µg/mL miRNA-34a prob modifiye IL-CA-PGE, prob ile (b) 2 µg/mL, (c) 4 µg/mL, (d) 6 µg/mL, (e) 8 µg/mL, (f) 10 µg/mL (g) 12 µg/mL miRNA-34a hedef hibridizasyonu sonucu ölçülen ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar. (B) 2–10 µg/mL miRNA-34a hedef konsantrasyonu aralığında elde edilen kalibrasyon grafiği .....	55
4.10. (a) 1µg/mL miRNA-34a prob modifiye IL-CA-PGE, 1 µg/mL miRNA-34a DNA prob ile 10 µg/mL, (b) miRNA-34a hedef, (c) miRNA-181b, (d) miRNA-155 hibridizasyonu sonrasında elde edilen (A) Nyquist diyagramları. (B) Ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar .....	57
4.11. (a) PGE, (b) CA-PGE, IL-CA-PGE, 1 µg/mL miRNA-34a DNA prob ile (d) 1:1, (e) 1:5 (f) 1:10, (g) 1:20 oranında PBS ile seyreltilmiş FBS ortamında yalancı hibridizasyon sonrasında elde edilen ortalama Rct değerleriyle (n=3) oluşturulan histogramlar.....	56

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.12. (A) (a) 1 µg/mL miRNA-34a prob modifiye IL-CA-PGE, prob ile 1:10 oranında PBS ile seyreltilmiş FBS içerisinde hazırlanan (b) 2 µg/mL, (c) 4 µg/mL, (d) 6 µg/mL, (e) 8 µg/mL, (f) 10 µg/mL (g) 12 µg/mL miRNA-34a RNA hedef hibridizasyonu sonucu ölçülen ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar. (B) 1:10 oranında FBS:PBS’de hazırlanan 2–10 µg/mL miRNA-34a hedef konsantrasyonu aralığında elde edilen kalibrasyon grafiği.....	57
4.13. (a) 1 µg/mL miRNA-34a prob modifiye IL-CA-PGE, 1 µg/mL miRNA-34a DNA prob ile 1:10 oranında PBS ile seyreltilmiş FBS içerisinde hazırlanan, 10 µg/mL (b) miRNA-34a hedef, (c) miRNA-181b, (d) miRNA-155 hibridizasyonu sonrasında elde edilen (A) Nyquist diyagramları. (B) Ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.....	58
4.14. (a) PGE, (b) 2,5 µg/mL, (c) 5 µg/mL, (d) 7,5 µg/mL, (e) 10 µg/mL, (f) 12,5 µg/mL konsantrasyonlarında DNA immobilize edilen PGE’ler ile elde edilen (A) Nyquist diyagramları, (B) Ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar. ....	59
4.15. 2,5-10 µg/mL DNA konsantrasyonu aralığında elde edilen kalibrasyon grafiği.....	59
4.16. (a) PGE, (b) 10 ng/mL (c) 20 ng/mL, (d) 30 ng/mL, (e) 40 ng/mL , (f) 50 ng/mL konsantrasyonlarında FB1 immobilize edilen PGE’ler ile elde edilen (A) Nyquist diyagramları, (B) Ortalama Rct değerlerini gösteren (n=3) histogramlar. ....	60
4.17. 10-40 ng/mL FB1 konsantrasyonu aralığında elde edilen kalibrasyon grafiği. .....	61



**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.18. (a) PGE, (b) DNA-PGE, (c) FB <sub>1</sub> -PGE, (d) FB <sub>1</sub> -DNA-PGE ile elde edilen (A) Nyquist diyagramları. (B) Ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar. .....	64
4.19. (a) PGE, (b) DNA-PGE, DNA-PGE'ler ile (c) 1 dk, (d) 3 dk, (e) 5 dk, (f) 15 dk, (g) 30 dk boyunca 40 ng/mL konsantrasyonundaki FB <sub>1</sub> ile etkileşimi sonrasında elde edilen (A) Nyquist diyagramları. (B) Ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.....	63
4.20. (a) DNA modifiye PGE, (b) DNA-PGE, DNA-PGE yüzeyinde 1:1 karışım olacak şekilde 40 ng/mL (c) OTA: FB <sub>1</sub> (1:1), (d) ZEN: FB <sub>1</sub> (1:1), (e) DON: FB <sub>1</sub> (1:1) elde edilen (A) Nyquist diyagramları, (B) Ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.....	64



**TABLolar DİZİNİ**

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2. 1. Son yıllarda mikroRNA tayinine yönelik geliştirilen elektrokimyasal analiz yöntemlerine örnekler .....	27
2.2. Antikanser ilaç-DNA etkileşiminin elektrokimyasal DNA biyosensörleri ile tayini .....	31
4.1. Farklı IL konsantrasyonlarında modifiye edilen elektrotlar ile gerçekleştirilen CV ölçümü sonucunda ölçülen ortalama $I_a$ , $I_c$ , $Q_a$ , $Q_c$ değerleri ve hesaplanan yüzey alanları. ....	47
4.2. 2–12 $\mu\text{g/mL}$ miRNA-34a hedef konsantrasyonu aralığında empedimetrik yöntemle hesaplanan görünen kısmi kaplama değerleri ( $\theta^{IS}_R$ ). ....	56
5.1. Elektrokimyasal miRNA analizine yönelik bazı güncel çalışmaların tez çalışması ile kıyaslanması.....	73
5.2. FB1 analizine yönelik bazı güncel çalışmaların tez çalışması ile kıyaslanması.....	77



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
kg	kilogram
$\mu$ g	mikrogram
ng	nanogram
L	Litre
$\mu$ L	mikrolitre
mL	mililitre
$\mu$ M	mikromolar
pM	pikomolar
fM	fentomolar
aM	attomolar

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
PGE	Kalem grafit elektrot
SPE	Perde baskılı elektrot
SPCE	Perde baskılı karbon elektrot
GCE	Camsı karbon elektrot
MWCNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
SWCNT	Tek duvarlı karbon nanotüp
GRP	Grafen
GO	Grafen oksit
CA	Kovalent bağlayıcı ajan
IL	İyonik sıvı

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
MoS <sub>2</sub>	Molibdenyum disülfid
CNF	Karbon nanofiber
AuE	Altın elektrot
AuNP	Altın nanopartikül
FB1	Fumonisin B1
DON	Deoksinivalenol
OTA	Okratoksin A
ZEN	Zearalenone
PPy	Polipirol
LNA	Kilitli nükleik asit
miRNA	mikroRNA
FBS	Fetal sığır serumu
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
CV	Dönüşümlü voltametri
EIS	Elektrokimyasal empedans spektroskopisi
LSV	Doğrusal taramalı voltametri
ECL	Elektrokemilüminesans
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
PDMA	Poli(2,5-dimetoksi anilin)
MB	Moleküler işaretçiler
CHIT	Kitosan
ERGO	İndirgenmiş grafen oksit
TiO <sub>2</sub>	Titanyum dioksit

## 1.GİRİŞ

Maddenin elektrik enerjisiyle etkileşmesi sonucunda meydana gelen kimyasal dönüşümle fiziksel farklanmaları ve kimyasal enerjinin elektrik enerjisine çevrilmesini araştıran bilim dalı elektrokimya adını almaktadır. Elektrokimya, bir maddeden diğer maddeye olan elektron aktarımını incelemektedir. Elektrokimyasal tepkimeler, yükseltgenme-indirgenme türü tepkimeleridir. Elektrokimyasal olaylar, elektrokimyasal hücre denilen bir düzenekte gerçekleştirilmektedir. Elektrokimyasal hücre, incelenen maddeyi içeren bir çözelti, maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrotlar ve bu elektrotları birbirine bağlayan bir dış devreden oluşmaktadır.

Biyosensörler, biyolojik bir sistemin belirgin spesifikliği ile fiziksel bir sistemin tayin duyarlılığının bir araya gelmesi ile oluşturulan ölçüm ve analiz sistemleridir. Biyosensörler, biyokomponentler ile fiziksel komponentlerden oluşmaktadır. Biyokomponent yüzeyi analiti tanıır ve sensör biyomoleküldeki değişimi ölçülebilir bir sinyale dönüştürür. Biyosensörler tıp, eczacılık, tarım, gıda, çevre analizleri, savunma ve çeşitli endüstriyel aktivitede özellikle kalite kontrolü ve durum tespitinde çok önemli rol oynamaktadır.

Nükleik asitler, hücrede genetik bilginin taşındığı, eksprese olduğu ve korunduğu biyomoleküllerdir. 1953 yılında DNA'nın çift sarmal yapısı keşfedilmiş ve birçok biyolojik fonksiyonun işleyişi anlaşılmıştır. Nükleik asitler hücrede meydana gelen her şey için önceden planlayıcı moleküllerdir. DNA, nükleotit adı verilen basit birimlerden oluşan iki uzun polimerden oluşur. Bu polimerlerin omurgaları, ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat gruplarından meydana gelir. DNA'da saklı olan genetik bilgi, replikasyon sayesinde kalıtılmaktadır, transkripsiyon ile RNA'ya aktarıldıktan sonra translasyon ile protein haline dönüştürülmektedir.

Elektrokimyasal nükleik asit biyosensörleri, elektrokimyasal bir çevirici üzerine immobilize edilmiş bir nükleik asit tanıma katmanı içerirler. Nükleik asit

tanıma katmanının rolü, DNA yapısında, DNA bağlayıcı moleküllerle etkileşimi sırasında veya belirli bir DNA dizisi tayin edilirken meydana gelen farklanmaları algılamaktır. Sinyal çeviricisi, tanıma katmanında meydana gelen farklanmaları, bağlayıcı moleküllere veya hibridizasyona göre kaydetmektedir, bu sinyali son kullanıcıya göndermek üzere ölçülebilir bir sinyale çevirmektedir.

DNA biyosensörlerinin en sık kullanıldığı uygulama alanları; ilaç, toksik maddeler gibi DNA'ya hedefli ve onunla etkileşen maddelerin analizidir. İnsan, bakteri ve virüs DNA'sının baz dizilimlerinin keşfedilmesiyle pek çok katılımsal hastalığa neden olan mutasyonlar artık belirlenebilmektedir. Bir çevirim sistemi ile beraber DNA probundan oluşan biyosensörler diziyeye özgü DNA biyosensörleri olarak adlandırılmaktadır. Tek sarmal kısa oligonükleotit içeren ve aranan hedefin baz dizisinin karşılığı olan proplar çözelti içerisinde kendisine seçimli olarak tutunacak kısmı seçerler ve hibritleşirler. Bu bağlanmanın tasarlanan biyosensörlerle yüksek duyarlılıkta ve hızlı bir şekilde algılanması mümkün olmaktadır. Günümüzde dizi seçimli DNA hibridizasyonunun başarılı bir şekilde elektrokimyasal biyosensörler kullanılarak saptanabildiği görülmektedir.

Ökaryotik hücrelerde bulunan, 19-25 baz çiftinden meydana gelen ve kodlayıcı olmayan RNA molekülleri mikroRNA (miRNA) olarak tanımlanmaktadır. Canlıların yaşam sürecinde, miRNA'ların düzenleyici fonksiyonları olduğundan ve bazı hastalıklarla yakın ilişkisi bulunduğundan dolayı oldukça önemli moleküllerdir. Kansere, kalp yetmezliği, vasküler hastalıklar, diyabet ve benzeri pek çok hastalık ile ilişkilendirilmesinin yanısıra hücre farklılaşması, apoptoz gibi temel hücresel süreç üzerindeki etkileri bulunmaktadır. Özellikle miRNA-34a, kanser başlangıcı, onkogenez ve tümörün tedaviye yanıtı ile ilgilidir. Literatüre göre miRNA-34a'nın kanser teşhisi, kardiyovasküler hastalıklar ve Alzheimer hastalığı için tanımlı bir biyobelirteç olarak kullanılabilceği belirtilmiştir.



İzotermal amplifikasyon ve Northern blot gibi teknikler çok kullanılan ancak karmaşık, pahalı ve zaman alıcı olan miRNA tayini için tekniklerdir. Geleneksel tekniklere kıyasla biyosensör teknolojileri zaman tasarrufu, spesifik bir tanıma yüzeyi ve az miktarda örneğe ihtiyaç duyulan hızlı ve pratik bir analiz imkanı sunmakta; duyarlı ve seçimli bir analizler yapılabilmektedir.

Fumonisin B1 (FB1), genellikle mısır ve diğer tarımsal ürünleri enfekte eden *Fusarium verticillioides* mantarı tarafından üretilen bir mikotoksindir. Fusarium türleri nemden zarar görmüş binalarda da bulunabilir ve bu nedenle de insanların FB1 dahil Fusarium mikotoksinlerine maruz kalmaları söz konusu olabilir. FB1 ile indüklenen toksisitenin ardındaki hücrel mekanizmalar arasında, sitokin ekspresyonundaki değişikliklerin yanı sıra oksidatif stres, apoptoz ve sitotoksitenin indüklenmesi yer alır. Farklı çalışmalarda kanserojen etkisi ve DNA ile kovalent olmayan etkileşimleri incelenmiştir. FB1'in DNA ile etkileşiminin empedimetrik yöntemle incelenmesi immunospesifik, kromatografik yöntemlere kıyasla daha kısa sürede, daha az mikotoksin kullanılarak duyarlı bir şekilde yapılabilmesi sayesinde avantajlıdır.

### **Çalışmanın konusu ve amaçları:**

Biyomoleküler etkileşimden yola çıkılarak miRNA tayinine yönelik elektrokimyasal biyosensörlerle yapılmış pek çok çalışma literatürde mevcuttur (Li et al., 2014; Erdem et al., 2015; Erdem et al., 2017; Miao et al., 2016; Kilic et al., 2018). Ayrıca toksin-DNA veya ilaç-DNA etkileşiminin elektrokimyasal biyosensörlerle tayin edildiğini rapor eden birçok çalışma bulunmaktadır (Erdem and Congur, 2013; Levision et al., 1998; Erdem et al, 2012; Yapanan et al., 2010, Eksin et al., 2013a, Top et al., 2016; Altay et al., 2015; Canavar et al., 2015; Unal et al., 2018; Dogan-Topal and Ozkan, 2011; Karimi-aleh et al., 2015).

Tez çalışmamızın ilk bölümünde biyomoleküllerin etkileşiminden yola çıkılarak kanser ve diğer birçok hastalığın teşhisinde önemli bir biyobelirteç olan miRNA-34a'nın elektrokimyasal tayinine yönelik nükleik asit hibridizasyon biyosensörü geliştirildi. Tek kullanımlık kalem grafit elektrotların yüzeyi kovalent

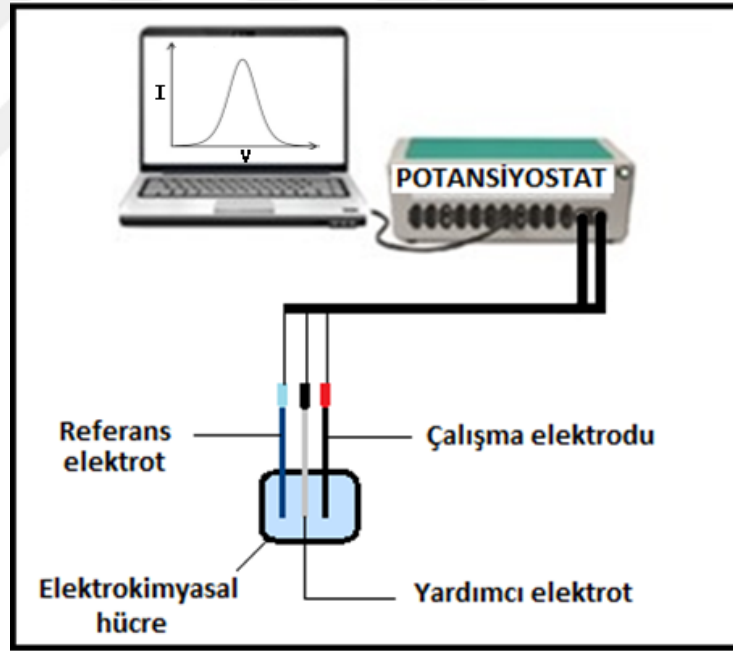
bağlayıcı ajan ve iyonik sıvı ile modifiye edildi. Tasarlanan biyosensörün elektrokimyasal karakterizasyonu CV ve EIS teknikleri ile yapıldı, mikroskobik yüzey karakterizasyonu SEM ile yapıldı. Optimize edilen deneysel koşullarda miRNA-34a tayini EIS tekniği gerçekleştirildi. Biyosensörün seçimliliğinin test edilmesi amacıyla farklı miRNA dizileri varlığında miRNA-34a tayini gerçekleştirildi. Ayrıca geliştirilen miRNA biyosensörünün gerçek örneklerle uygulanabilirliğinin incelenmesi amacıyla yapay serum ortamında (FBS) mikroRNA-34a tayini gerçekleştirildi. Literatür incelendiğinde IL-CA-PGE yüzeyi kullanılarak miRNA tayinine yönelik empedimetrik bir biyosensör çalışmasına rastlanmamıştır.

Çalışmamızın ikinci kısmında, FB1-DNA etkileşimi empedimetrik yöntemle dayalı biyosensörler tayin edildi. Optimum koşullarda DNA immobilize edilmiş PGE ile FB1'in etkileşim süresi çalışıldı ve etkileşim öncesi/sonrasında ölçülen Rct değerleri kıyaslanarak etkileşim hakkında yorum yapıldı. Ayrıca, DNA immobilize PGE ile farklı mikotoksinleri içeren karışım ortamlarında FB1-DNA etkileşiminin tayin edilmesiyle biyosensörün seçimliliği test edildi. Literatür incelendiğinde, FB1 ile DNA'nın etkileşiminin elektrokimyasal olarak incelendiği bir çalışmaya henüz rastlanmadı.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Elektrokimya

Elektrokimya, maddenin elektrik enerjisiyle etkileşmesi ile oluşan kimyasal dönüşümlerle fiziksel farklanmaları ve kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüşümünü inceleyen bilim dalıdır (Skoog et al., 1996). Elektrokimyasal tepkimeler, redoks yani yükseltgenme-indirgenme türü tepkimelerdir. Elektron transferinin olduğu, yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleri bir arada yürür ve elektrokimyasal hücre içerisinde gerçekleştirilir. Bir elektrokimyasal tepkimenin gerçekleşebilmesi için, analiz edilecek maddeyi yani analiti içeren bir çözelti, maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrot sistemi (ikili ya da üçlü elektrot sistemi) ve bu elektrotları birbirine bağlayan bir çevirici yapıya (transducer) ihtiyaç duyulur.

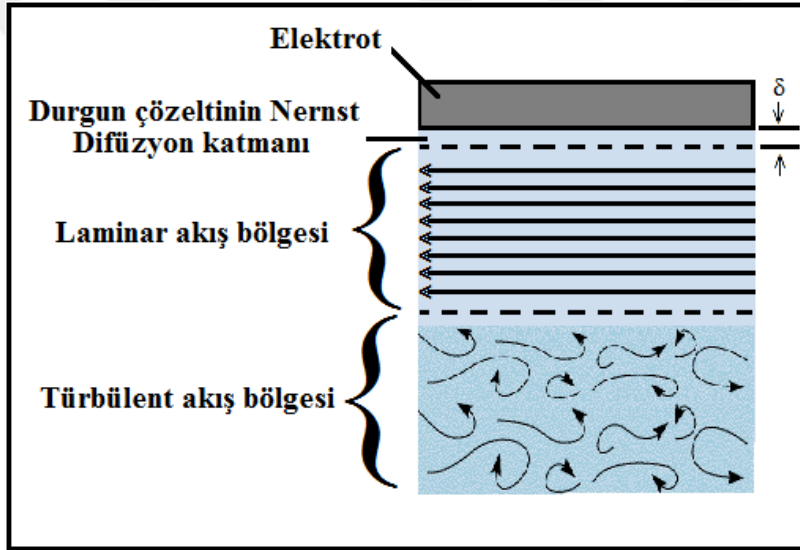


Şekil 2.1. Üçlü elektrot sisteminin şematik gösterimi.

Çalışma elektrodu, yüzeyinde analitin yükseltgendiği veya indirgendiği elektrot olarak adlandırılır. İkinci elektrot, polarlanmayan özellikte olan ve karşılaştırma (referans) elektrodu olarak isimlendirilir. Üçlü elektrot sisteminde kullanılan üçüncü elektrot ise yardımcı elektrot olarak adlandırılır (Şekil 2.1).

### 2.1.1. Elektrokimyasal Tabakalar

Elektrokimyasal ölçümlerin heterojen sistemlere sebep olduğunun farkında olmak önemlidir, çünkü elektrot kendisine komşu çözelti tabakasında bulunan bir türe elektron verebilir veya ondan elektron alabilir. Bu nedenle bu tabakanın bileşimi çözeltinin diğer kısımlarının bileşiminden belirgin ölçüde farklı olabilir (Skoog et al., 1998). Heterojen tabakaların bileşimi Şekil 2.2’de görülmektedir.



Şekil 2.2. Elektrot yüzeyinde oluşan tabakaların şematik olarak gösterilmesi.

Türbülent akış bölgesi: Elektroda en uzak çözelti yığnında görülür ve düzenli bir akış modeli yoktur.

Laminer akış bölgesi: Elektrot yüzeyine doğru yaklaşıldığında laminer olan bir akış gözlenir. Bu bölgede sıvı tabakaları elektrot yüzeyine paralel bir yönde birbiri üzerine kayarlar.

Nernst difüzyon katmanı: Elektrodun yüzeyinden  $\delta$  cm uzakta, laminer akımının hızı sıvı ile elektrot arasında gerçekleşen sürtünmeden kaynaklı sıfıra yaklaşır dolayısıyla elektrot çevresinde görülen durgun ve ince bir çözelti tabakası görülür. Genelde bu çözelti katmanı,  $10^{-2}$ - $10^{-3}$  cm kalınlığında olabilir.

### **2.1.2. Voltametri ve Esasları**

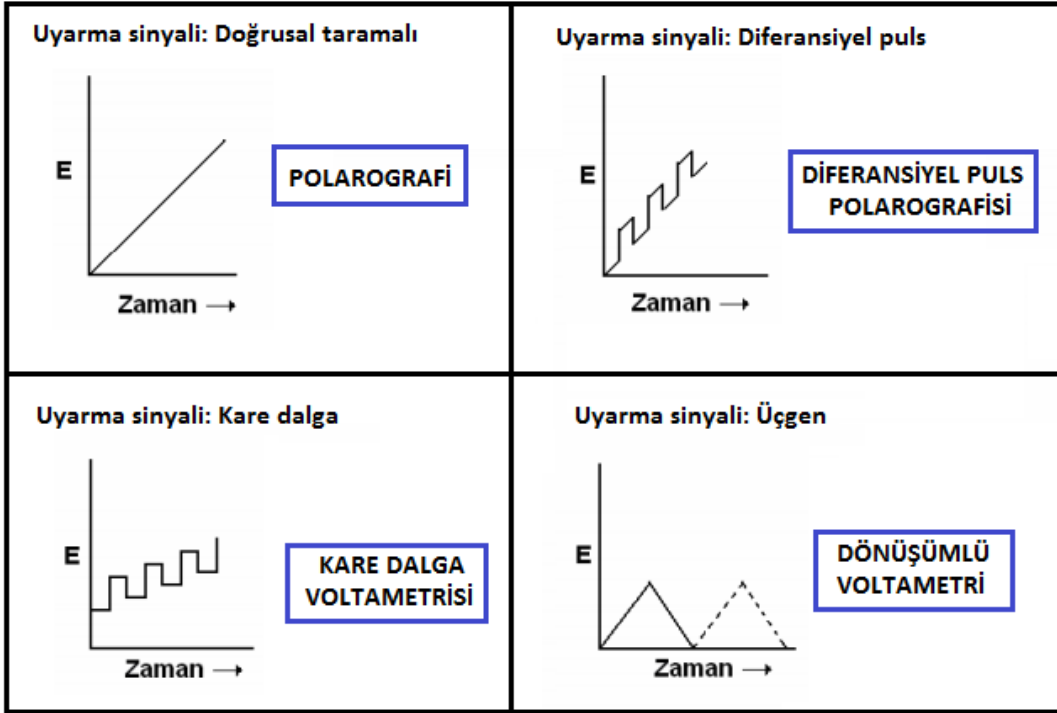
Çalışma elektrodunun polarize olduğu veya bir indikatörün bulunduğu şartlar altında, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesi sayesinde analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik yöntemlere voltametri denir (Skoog et al., 1998). Uygulanan potansiyelin elde edilen akım değerlerine karşı meydana gelen grafik, voltamogram olarak adlandırılır. Genelde, polarizasyonu arttırmak amacıyla voltametri de kullanılan çalışma elektrotlarının yüzey alanları çoğunlukla birkaç milimetre kare veya daha küçük olan mikroelektrotlardır.

Tarihsel açıdan incelendiğinde voltametri Jaroslav Heyrovsky tarafından 1920'lerin başlarında uygulama alanına giren ve voltametrinin özel bir tipi olan polarografiden geliştirilen bir yöntemdir. Polarografi, çalışma elektrodu olarak damlayan civa elektrodu kullanılması bakımından diğer voltametri tiplerine göre değişiklik göstermektedir.

Voltametri analitik dışında farklı amaçlar için de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bunlara örnek olarak çeşitli ortamlarda oluşan yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin incelenmesi kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerinde gerçekleşen elektron aktarım mekanizmalarının keşfedilmesi ve yüzeydeki adsorpsiyon işlemlerinin incelenmesi verilebilir.

### 2.1.3.Voltametrde Kullanılan Uyarma Sinyalleri

Voltametrde, bir mikroelektrot içeren elektrokimyasal huceye farkedirilebilir bir potansiyel uyarma sinyali uygulanır. Bu uyarma sinyali sonucunda karakteristik bir akım cevabı meydana gelir (Skoog et al., 1996). Voltametrde sıklıkla kullanılan dört uyarma sinyalinin Şekli, Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Voltametrde kullanılan uyarma sinyallerinin Şematize edilmiş hali.

#### 2.1.4. Voltametrik Cihazlar

Voltametrik analizde kullanılacak cihazlar, elektrokimyasal hücre, analiz edilecek madde ve destek elektrolit içeren bir çözeltiye daldırılmış üç elektrottan oluşur. Üç elektrottan biri, zamanla potansiyeli doğrusal olarak değişen mikroelektrot veya *çalışma elektrotudur*. Çalışma elektrodunun boyutları polarize olma eğilimini arttırmak amacıyla küçük tutulur ve yüzeyinde analit indirgenir veya yükseltgenir. İkinci elektrot, potansiyeli deneyler boyunca sabit kalan bir *referans elektrottur* (genellikle bir gümüş/gümüş klorür veya bir doymuş kalomel elektrot). Üçüncü elektrot ise elektriğin, sinyal kaynağından çözeltinin içinden geçerek çalışma elektroduna aktarımını sağlayan genellikle helezon şeklinde bir platin tel veya bir cıva havuzu olan *karşıt elektrottur* (Caliskan, 2009b).

#### 2.1.5. Voltametride Kullanılan Referans Elektrotlar

Elektrokimyasal çalışmalar sırasında potansiyeli dış ortamdan etkilenmeyen, sabit kalan ve tamamıyla çalışan çözeltinin bileşimine duyarlı olan elektrotlardır (Skoog et al. 1996; Evans, 1991; Pietrzyk and Frank, 1979; Yıldız ve Genç, 1993; Service, 1998).

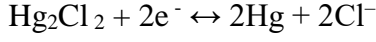
##### **Referans elektrotların çeşitleri:**

##### Standart Hidrojen Elektrot (SHE):

Genel olarak SHE potansiyeli bütün sıcaklıklarda sıfır volt olarak kabul edilir. SHE, elektrokimyasal araştırmalarda referans elektrot olarak kullanımının dışında pH tayinlerinde indikatör elektrot olarak da kullanılmıştır. Hazırlanması zaman alan bir elektrot olduğundan fazla kullanışlı değildir (Tural vd., 2006).

Kalomel Elektrot:

Elektrotta gerçekleşen;



meydana gelen bu tepkimenin potansiyeli ortamdaki klor iyonu derişimi ile orantılır. Kalomel elektrot, referans elektrot olarak elektrokimyada sıklıkla kullanılır. Elektrodun dengelenmesi için hazırlandıktan sonra birkaç gün bekletilmesi gerekmektedir. Sıcaklık farklanmalarından kolay etkilenir.

Gümüş–Gümüş Klorür Referans Elektrot:

Bu elektrot,



Bir tüpün en altında plastik veya camdan yapılmış poröz yapıda bir tıpa, üzerinde çözelti sızmalarını önlemek amacıyla potasyum klorürce doymuş bir köprü, onun üzerinde katı halde potasyum klorür ve en üst kısımda da içerisine 1–2 damla gümüş nitrat damlatılmış olan doymun potasyum klorür çözeltisi bulunur. Bu çözeltinin içerisine uç kısmı AgCl ile kaplanan gümüş bir tel daldırılır. Bu referans elektrot, doymun kalomel elektroda göre daha yüksek sıcaklıklarda kullanılabilmesi ve az miktarda analit ile tepkimeye girmesi sebebiyle çok yaygın olarak kullanılır.

Civa–Civa (I) Sülfat Referans Elektrot:

Elektrodun potansiyeli sülfat iyonlarının aktifliği ile belirlenir. Doymun kalomel elektrot ile benzerlikler içermektedir.

Reaksiyon:  $\text{Hg}_2\text{SO}_4 (k) + 2e^- \leftrightarrow 2\text{Hg}(k) + \text{SO}_4^{2-}$  şeklindedir. Ancak civa içermesi sebebiyle çok yaygın olarak kullanılmaz.



### 2.1.6. Voltametri de Kullanılan Yardımcı Elektrotlar

Genelde yardımcı elektrot, helezon şeklinde bir platin tel veya bir civa havuzu olan ve elektriğin çözelti içinden çalışma elektroduna transferine imkan sağlayan elektrottur. Yardımcı elektrot, çalışma elektrotu ile bir çift oluştur ancak ölçülen potansiyelin büyüklüğünün tespit edilmesinde etkisizdir.

### 2.1.7. Voltametri de Kullanılan Çalışma Elektrotları

Çalışma elektrotları, zaman içerisinde potansiyeli doğrusal bir değişime uğrayan, yüzeyinde analiz edilen maddenin yükseltgendiği veya indirgendiği mikroelektrotlardır. Bunlar, altın, platin, civa, bizmut, karbon bazlı ve modifiye elektrotlar olarak sayılabilir.

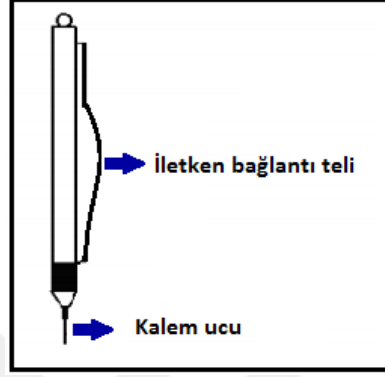
Belirlenen çalışma ortamına göre çalışma elektrotları için uygun bulunan potansiyel aralıkları aşağıda verilmektedir. Karbon elektrot ile çalışıldığında, 1 M HClO<sub>4</sub> varlığında, (+0,2 V) ile (+1,8 V) aralığı ile, 0,1 M KCl varlığında (-1,0 V) ile (+1,2 V) aralığı olarak seçilir. Civa elektrot ile çalışıldığında ise 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> varlığında, (-0,8 V) ile (+0,4 V) aralığı ve 1 M KCl varlığında, (-1,6 V) ile (+0,2 V) aralığı olarak seçilir.

#### 2.1.7.1. Karbon Temelli Elektrotlar

Maliyetlerinin oldukça düşük olması ve geniş bir potansiyel aralığında çalışma yapılmasına imkan sağlamasından dolayı elektrokimyasal tayinlerde sıkça kullanılmaktadırlar (Wang, J. and Kawde, A.N., 2001; Palecek, E. and Bartosik, M., 2012; Erdem, A., 2007). Karbon yüzeyinde, hidrojen, hidroksil ve karboksil grupları ve kinonlar ile bağlar oluşabilmektedir. Bu fonksiyonel grupların bulunması sayesinde karbon yüzeyine çok sayıda farklı madde tutturulabilmektedir. Karbona dayalı elektrotlara perde baskılı karbon elektrot (SPCE), karbon pasta elektrodu (CPE), camsı karbon elektrot (GCE) ve kalem grafit elektrot (PGE) örnek olarak verilebilir.

### Kalem grafit elektrotlar:

Son yıllarda, biyosensör uygulamalarında kalem grafit elektrot (PGE) (Şekil 2.4) kullanımına yönelik artan bir ilgi bulunmaktadır. Bunun en önemli sebepleri arasında yapılan çalışmalarda PGE'nin gösterdiği yüksek tekrarlanabilirlik, tayin sınırının düşük olması, ucuz ve tek kullanımlık olması gösterilebilir.



Şekil 2.4. Kalem grafit elektrot.

### 2.1.8. Voltamogramlar

Genellikle doğrusal taramalı voltamogramlar, voltametrik dalga olarak isimlendirilen sigmoidal şeklindeki (S şeklinde) eğrilerdir. Dik bir artıştan sonra oluşan sabit akım **difüzyon kontrollü akım** veya **sınır akımı**,  $i_s$ , olarak adlandırılır. Çünkü, bu akım, analiz edilen maddenin kütle transfer işlemiyle elektrot yüzeyine taşınma hızındaki sınırlamadan oluşur. Sınır akımları analiz edilen maddenin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Skoog et al., 1996).

Bu nedenle;  $I_s = k c_A$  şeklinde yazılmaktadır.

Bu denklemde,  $c_A$  analit konsantrasyonu ve  $k$  ise sabittir. Yarı dalga potansiyeli, sınır akımının, akımın yarısına eşit olduğu potansiyele denir ve  $E_{1/2}$  sembolü ile ifade edilir. Hızlı bir şekilde sınır akımları elde etmek için çözelti veya mikroelektrot devamlı ve tekrarlanabilir bir hareket halinde olmalı ya da damlayan cıva elektrot gibi bir elektrot kullanılmalıdır.

Gerilim uygulanan elektrot sisteminde, kapasitif ve faradayik olmak üzere 2 tür akım meydana gelir.

**Kapasitif akım ( $i_c$ )** : Çalışılan elektrodun bir elektrolit çözeltisine daldırılıp ve negatif yükle yüklenmesinden sonra çözeltide bulunan pozitif yüklü iyonlar elektrot yüzeyine doğru çekilir. Dolayısıyla ara yüzeyde gerilimde farklanma gerçekleşir. Ters işaretli yüklerin ara yüzeyin iki tarafında birikmesi sonucunda elektriksel çift tabaka oluşur, bu tabaka bir kapasitör gibi davranır. Ortamda yükseltgenecek veya indirgenecek madde olmasa dahi bu kapasitörün yüklenmesi için bir akım oluşur. Oluşan akım tepkimededen bağımsızdır; sistemden kaynaklanan bu akıma kapasitif akım olarak adlandırılır. Bu akım ne kadar düşük olursa o derece doğru bir ölçüm yapılır.

**Faradayik akım ( $i_f$ )**: Tepkimededen kaynaklanan akımdır.

$i = i_f + i_c$  olduğundan  $i_c$  azaldıkça duyarlılık artar.

Çoğunlukla,  $10^{-3}$  M ve üstünde;  $i_c < i_f$  koşulu sağlanır ve çalışılabilir.  $10^{-4}$  M'da nispeten iyi sonuç alınır.  $10^{-5}$  M ve üstünde;  $i_c \gg i_f$  olduğundan çalışmak uygun değildir.

### 2.1.9. Voltametrik Akımlar

Bir elektroliz işleminde akım, analiz edilen maddenin difüzyon tabakasının dış kısmından elektrot yüzeyine transfer hızı ile kontrol edilir ve bu hız  $\partial C_A / \partial X$  ile verilir. Bu denklemde X, elektrottan olan uzaklığı cm cinsinden vermektedir. Düzlemsel bir elektrotta , akım

$$i = nFD_A (\partial C_A / \partial X )$$

şeklinde ifade edilebilir (Skoog,1996). Bu denklemde,

I = Akım (Amper cinsinden),

A = Elektrot yüzey alanı (cm<sup>2</sup> cinsinden),

N= Analitin molü başına elektronların mol sayısı,

F =Faraday sabiti ( 96487 Coulomb / mol elektron),

D<sub>A</sub> = A' nın cm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> cinsinden difüzyon katsayısı,

C<sub>A</sub> = mol/cm<sup>3</sup> cinsinden A'nın derişimini ifade etmektedir.

Meydana gelen difüzyon akımının zamana karşı fonksiyonu **COTTRELL denklemini** vermektedir.

$$i = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2} t^{1/2}}$$



Şekil 2.5'te gösterilen Nyquist eğrisinde, ölçümün ilk aşamasında yüksek frekanslarda meydana gelen çözelti direnci ( $R_s$ ), bu direncin devamında oluşan yarım daire elektrotta transfer edilen yüke karşı oluşan direnç ( $R_{ct}$ ) ve düşük frekanslarda oluşan lineer bölge ise Warburg empedansı ( $R_w$ ) olarak gösterilmiştir. Sistemin yük depolama özelliği ise kapasitans olarak tanımlanır. Bu teknikle belirlenen bir frekans aralığında empedans taraması gerçekleştirilir ve elektrot yüzeyinde meydana gelen olayların aydınlatılmasında  $R_{ct}$  değerindeki farklanmalar yorumlanır.

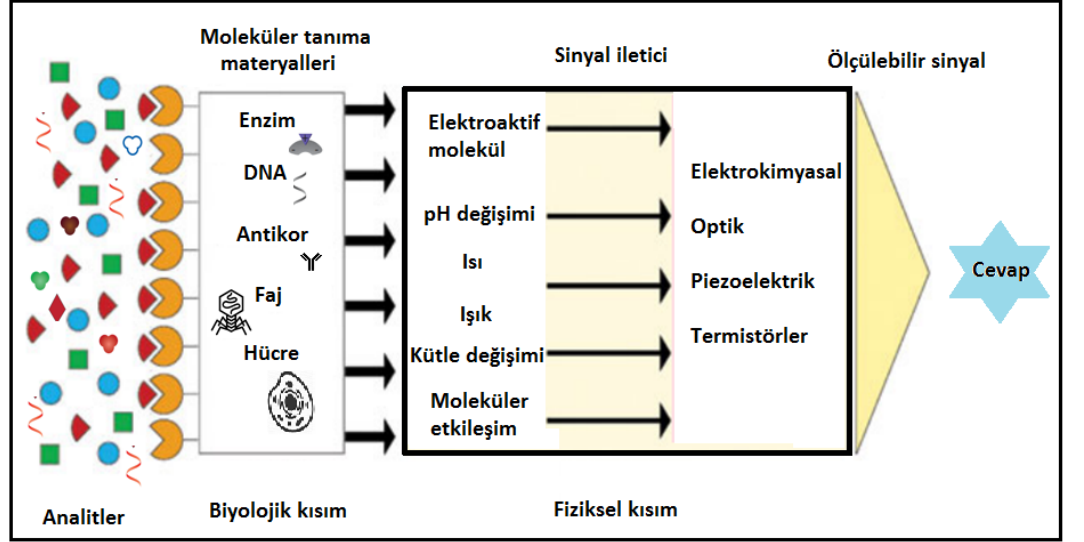
Empedans ölçümleri; yarı iletken elektrotların özelliklerinin incelenmesi, metal kaplama çalışmaları, korozyon çalışmaları, biyosensörler, iletken polimer özelliklerinin incelenmesi, biyolojik sistemler, ince organik film özelliklerinin tespiti, yarı iletken polimerlerin özelliklerinin incelenmesi gibi pek çok alanda kullanılır (Orazem and Tribollet, 2008).

Oldukça fazla uygulanma alanı olan elektrokimyanın en önemli uygulama alanlarından biri de **biyosensörlerdir**.

## 2.2. Biyosensörler

Tüm canlılar yaşadıkları ortamdaki değişimleri anında algılayıp yaşamlarını devam ettirebilmek için çevrelerinde gerçekleşen değişimlere uyum sağlama mecburiyetindedir; bu algılama biyosensörlerin in vitro uygulaması için esas olmuştur.

Canlılarla ilişkili mesajları algılamayı sağlayan biyolojik sistemlerin fiziksel analiz sistemleri ile birleşmesi biyosensörleri oluşturur. Biyosensörler fiziksel bir sistemin tayin duyarlılığı ile biyolojik bir sistemin yüksek spesifikliğinin birleştirilmesi ile elde edilen analiz ve ölçüm sistemleridir. Biyosensörler fiziko-kimyasal dönüştürücüler veya dönüştürücü mikrosistemler ile bunlarla yakın ilişkideki biyolojik yapıları birleştiren analitik cihazlardır (Sharma et al., 2004). Biyosensörün temel çalışma prensibi Şekil 2.6'da gösterilmiştir. Biyokomponent yüzeyi analiti tanıyıp ve sensör biyomoleküldeki farklanmayı ölçülebilir sinyale dönüştürür (Mohanty and Kougiannos, 2006).



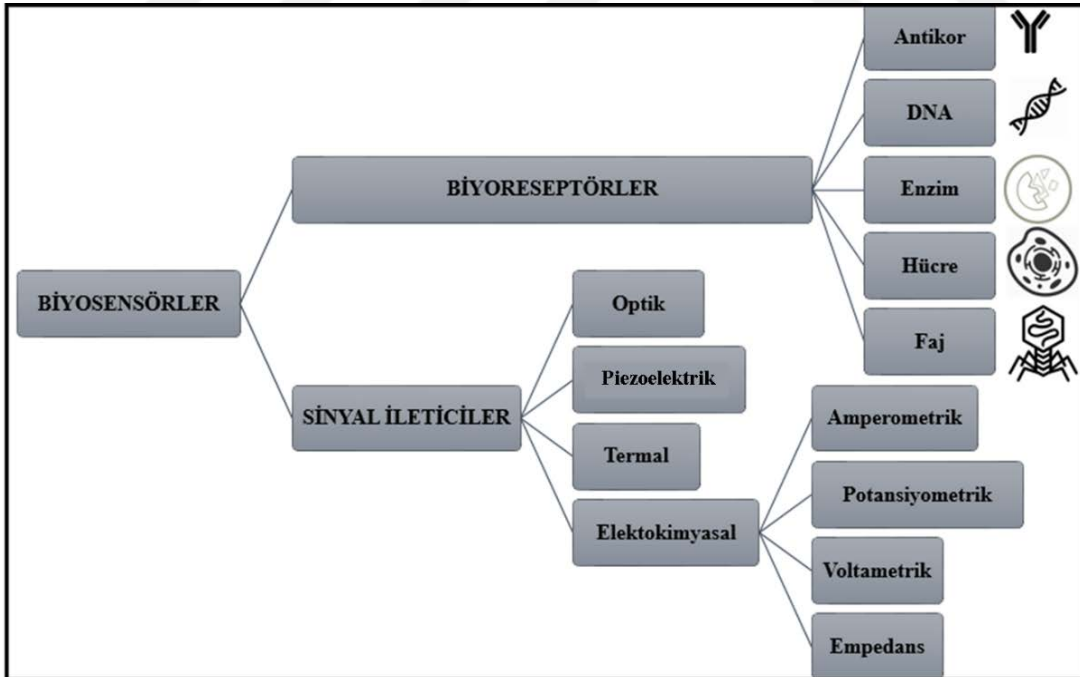
Şekil 2.6. Biyosensörün temel çalışma prensibi.

Biyosensörler ön işleme gerek kalmaksızın duyarlı ölçümler yapılabilen minyatürize sistemlerdir. Diğer tayin yöntemlerine göre, artırılmış algılama hızı ve esneklik gibi birçok avantaja sahiptirler. Gerçek zamanlı, hızlı analizler sayesinde, kullanıcılara anında sonuç verebilme imkanı sağlamaktadırlar.

### 2.2.1. Biyosensörlerin Sınıflandırılması

Genel olarak biyosensörler, biyoreseptör olarak seçilen moleküler ve sinyal iletilici türüne göre sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.7). Seçilen biyoreseptör uygun immobilizasyon yöntemiyle sinyal iletiliciye bağlanır. İmmobilizasyon yöntemi immobilize edilecek olan biyoreseptör yapısına göre seçilir. Genel olarak 5 yaygın yöntem kullanılmaktadır. Bunlar; tutuklama, adsorbsiyon, mikro enkapsülasyon, kovalent bağlama ve çapraz bağlama'dır. Kullanılan transdüksiyon elementi ve analitin fiziksel durumu da seçilecek yöntem için önemli faktörlerdir (Mehrvar et al., 2000).

Biyolojik ve biyokimyasal sinyalleri veya cevabı ölçülebilir sinyale dönüştürebilen sistemlere sinyal iletilici (transdüser) denir. Biyosensörde biyokomponent tabakada bulunan biyolojik materyalin aktivitesi  $O_2$  tüketimiyle,  $H_2O_2$  oluşumuyla, NADH konsantrasyonundaki değişimle, pH değişimiyle, floresans, absorbsiyon, kondüktivite, sıcaklık ya da kütledeki değişimle izlenebilmektedir. Sinyal iletiliciler temelde, elektrokimyasal, optik, piezoelektrik ve termal sinyal iletiliciler olarak sınıflandırılabilir (Aykut ve Temiz, 2006).



Şekil 2.7. Biyosensörlerin sınıflandırılması.



## 2.2.2. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri

**Duyarlılık:** Bir biyosensörün duyarlılığı sistemin analizlenecek maddede (analit) meydana gelen değişime anında cevap vermesi durumu olarak adlandırılır. Yüksek duyarlılığa sahip bir biyosensörde analizlenecek maddenin miktarında birim farklanma sinyalle orantılı şekilde gözlenir.

**Seçicilik:** Biyosensörün analiz edilen maddeye olan özgünlüğünü ifade eder. İdeal biyosensör sistemi, girişimleri algılamaz ve hatalı sonuca neden olmaz.

**Ölçüm aralığı:** Biyosensörün algılayabildiği analit konsantrasyonu aralığıdır. Biyosensör sisteminin iyi bir duyarlılık gösterebilmesi için analiz edilen maddenin belli bir derişimden az veya çok olmaması gerekmektedir.

**Ölçüm süresi:** Analit derişiminde bir basamak farklanma sonucu biyosensörün vereceği son cevabı tayin etmek için gereken süredir. Biyosensörün ölçüm hızıyla ilişkilidir.

**Tutarlılık:** Bir biyosensörün ideal olması için aynı koşullar altında üst üste yapılan ölçümlerde hep aynı sonucu elde etmesi beklenmektedir.

**Hızlı yanıt süresi:** Biyosensörün yanıt süresi elde edilen akım-zaman grafiklerinden anlaşılabilir. Elde edilen grafiklerde basamakların şekli yayvan ve geniş ise yanıt süresi uzun, tersi durumda yanıt süresi kısadır.

**Tespit sınırı:** Biyosensörün tespit edebileceği en az analit konsantrasyonudur.

**Kullanım ömrü:** Biyosensörün, performansında belirgin bir azalış gerçekleşmeden devam ettirdiği çalışma ömrünü ifade eder.

**Kararlılık:** İdeal bir biyosensörde kararlılığın yüksek olması istenmektedir, bu durum çalışmada kullanılan biyolojik materyalin fiziksel dayanıklılığına bağlıdır. Bunun dışında, sıcaklık, pH, nem, oksijen konsantrasyonu gibi etkenler de önemlidir.

**Ucuz ve basit olması:** İdeal biyosensörlerde, tasarımının maliyetsiz, kullanımının basit olması istenmektedir.

**Küçültülebilirlik ve sterilize edilebilirlik:** Biyosensörde kullanılan biyolojik materyalin fiziksel dayanıklılığı, sterilizasyonunu sınırlayan en önemli parametrelerden birisidir. Ama biyosensör geliştirilirken elektrotlarının boyutlarının küçültülmesi ve sterilize edilebilmesi önem arz etmektedir.

### 2.2.3. Biyosensör Uygulamaları

Biyosensörler, gıda, eczacılık, tarım, tıp, biyomedikal, çevre analizleri, biyoteknoloji, savunma ve birçok endüstriyel aktivitede rol almaktadırlar. Bugüne dek çok sayıda analit için biyosensör hazırlanmış olup bunlardan belirli bir kısmı ticari olarak üretilmektedir. Biyosensörlerin uygulanmasına imkan sağlayan alanlar: Klinik diyagnostik, biyomedikal sektör, proses kontrolü, biyoreaktör kontrolü, gıda üretim ve analizi, bakteriyel ve viral diyagnostik, ilaç analizi, endüstriyel atık su kontrolü, çevre koruma ve kirlilik kontrolü, maden ocaklarında zehirli gaz analizleri, askeri kullanım, ziraat ve veterinerlik olarak sıralanabilir (Mehrotra, 2016; Bulut, 2011; Dinckaya et al., 1999).

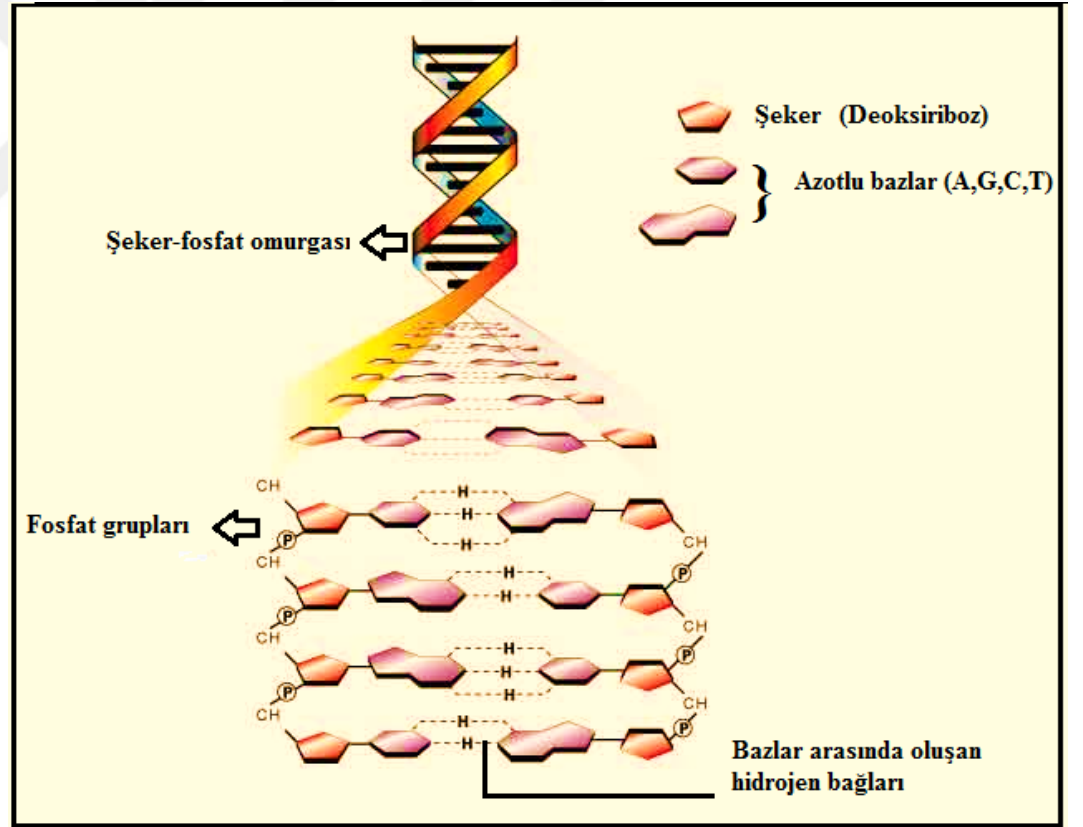
Moleküler düzeyde her gün yeni bir bilginin ortaya konması ve teknolojiye gelişmelerin hız kesmeden devam etmesi, biyosensörlerin yakın zamanda günlük yaşamdaki yerini daha hızlı bir şekilde alacağını habercisidir.

### 2.2.4. Biyosensör Geliştirilirken Kullanılan Moleküller ve Yapıları

#### 2.2.4.1. Nükleik Asitler ve DNA

Organizmanın genetik bilgisini içeren ve kalıtımda rol oynayan organik bir molekül olan DNA'nın yapısını, Watson, Crick, Wilkins ve Franklin 1950 yıllarında hazırladıkları modeller üzerine açıklamaya çalışmışlardır. Buna göre DNA molekülü, sarmal şeklinde kıvrılmış, iki kollu bir ip merdivenine benzemektedir (Şekil 2.8). Merdivenin kenarları, şeker (deoksiriboz) ve fosfat moleküllerinden meydana gelmiştir. Fosfat grupları ve şeker birbirlerine ester bağlarıyla bağlanmıştır. Nükleotitlerin farklılaşması taşıdıkları bazlar sayesinde.

Nükleotitler içerdikleri azotlu bazlara göre isimlendirilir. Azotlu bazlar, pürinler ve pirimidinler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Pürinler, dokuz atomlu, iki halkalı, adenin (A) ve guanin (G), pirimidinler altı atomlu tek, halkalı, sitozin (S), timin (T) ve urasildir (U). DNA'da bu nükleotitlerden, A,T,G,S, RNA'da ise A,U,G,S bulunmaktadır, RNA'da ise A,U,G,S bulunmaktadır (Brett et al., 1997, Erdem and Ozsoz, 2011). Adenin timin ile, sitozin ise guanin ile bağ yapar. Adenin ile timin arasında çift hidrojen bağı, sitozin ile guanin arasında ise üç hidrojen bağı bulunmaktadır. Pürin ve pirimidin bazları, yandaki şekerlere (Riboz), glikozidik bağlarla bağlanmıştır. Çift sarmal yapıdaki molekülün bir zinciri 5' → 3' yönüne, diğeri ise 3' → 5' yönüne doğru olduğundan ters yönde paraleldir. Çift zincirli sarmal yapısında iç kısmında bazlar, dış kısımda ise fosfat ve şeker omurgası ise yer aldığından sarmalın iç tarafı hidrofobik, dış tarafı ise hidrofilik niteliktedir (Caliskan, 2009b).



Şekil 2.8. DNA'nın çift sarmal yapısı.

DNA'nın genel olarak 2 görevi bulunmaktadır. Birincisi hücre bölünmesinin hazırlık safhasında kendini kopyalamasıdır. Kromozomların ikiye bölünmesinde DNA molekülünün kendisinin bir kopyasını yapması olayına duplikasyon denir. DNA'nın duplikasyonu sırasında, iki sarmalı bir arada tutan hidrojen bağları açılır ve açığa kalan nükleotitlerin uç kısımları, hücrede önceden sentezlenen nükleotitler ile tamamlanır. Bu şekilde birbirinin aynı olan iki DNA oluşur. İkinci görevi ise, DNA'da bulunan bilgiyi RNA'ya (Ribonükleik asit) aktarmasıdır. Bu olay transkripsiyon olarak adlandırılır. Tüm bunlardan sonra RNA'da toplanan bilgi ribozomlarda enzim, protein gibi maddelerin sentezlenmesinde kullanılır.

#### 2.2.4.2. DNA ile İlişkili Terimler

Oligonükleotit; birden fazla nükleotidin bir araya gelmesi sonucu oluşur.

Dinükleotitler; iki nükleotidin bir araya gelmesiyle oluşur .

Trinükleotitler; üç nükleotidin bir araya gelmesiyle oluşur.

Baz çifti: Birbirine karşılık olan iki bazı anlatır ve gösterimi yapılırken nokta ile ayrılır. Örneğin, A.T baz çifti gibi.

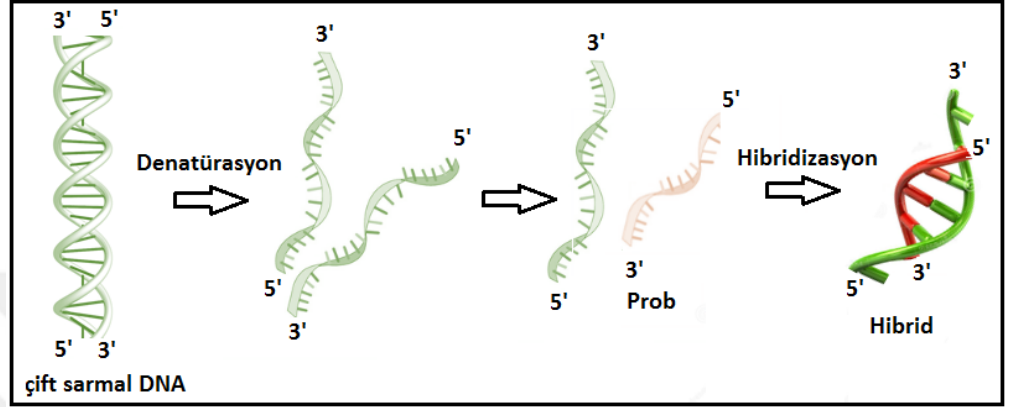
Prob: Baz dizisi belirlenmiş olan oligonükleotitlerdir.

Hedef dizi (Target): Proben tam karşılığı olan oligonükleotit.

Rastgele dizi (Non complementary-NC): Dizilimi hedef dizisiden tümüyle farklı baz dizilimine sahip olan oligonükleotit.

### 2.2.4.3 Nükleik Asitlerin (DNA) Hibridizasyonu

Ortamdaki baz çiftlerinin hibridizasyon şartlarına bağlı olarak kararlı çift sarmallı tek bir yapı haline gelmesine “Nükleik asit hibridizasyonu” denir (Bej, 1996).



Şekil 2.9. Nükleik asit hibridizasyonu.

DNA biyosensörlerinin esası, DNA hibridizasyonuna dayanmaktadır. İşlem, aranan hedef diziye karşılık gelen kısa bir baz dizimine sahip olan yapay oligomerin (tek sarmal DNA, prob) hedef dizi ile hibrit oluşturmasıyla başlamaktadır (Şekil 2.9). Hibrit yapısını içeren bir çözeltiye biyosensörün uygulanması, elektrot yüzeyine hibritin immobilize olmasını sağlar. Bu oluşumun elektrokimyasal veya optik ölçümü bir çevirici sinyali ile gözlenir.

### **2.2.5. DNA Biyosensörleri**

Her geçen gün gelişen yeni sensör teknolojilerinin arasında DNA biyosensörleri oldukça önemli bir yere sahiptir. Nükleik asit analizlerinde sıklıkla kullanılan biyosensörler arasında elektrokimyasal DNA biyosensörleri, seçimli ve duyarlı sonuçları verebilme, pratik olma, ekonomik olma, hızlı ve tekrarlanabilir sonuçlar alma gibi özellikleriyle öne çıkmaktadır (Palecek and Fojta, 2001; Jelen et al., 2002; Erdem, 2007). Tanıma yüzeylerini nükleik asit dizilerinin oluşturduğu bu tip biyosensörlerde hedefin algılanması, DNA hibridizasyonu gibi oldukça spesifik olan bir mekanizmaya dayalı olduğu için yüksek seçimlilikte tayinlere imkan tanımaktadır. Günümüzde sensör yüzeyinin farklı nanomalzemelerle modifiye edilmesiyle klasik sensör teknolojisinin bir adım daha önüne geçilerek, DNA biyosensörlerinin avantajları daha da arttırılmaktadır (Wang, 2005; Erdem et al., 2017; Isin et al., 2017; Yapasan et al., 2010; Tao et al., 2017; Shuai et al., 2017).

### **2.2.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)**

Taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope-SEM), Manfred von Ardenne liderliğinde 1930'lu yıllarda geliştirilmiştir. Taramalı Elektron Mikroskobu; numune hücresi, optik kolon ve görüntüleme sistemi olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır (Reimer, 2013). SEM'de görüntü, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan farklı girişimler sonucu oluşan etkilerin uygun algılayıcılarda bir araya gelmesi ve sinyal güçlendiricilerden geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekranına aktarılmasıyla elde edilir. Gelişmiş sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir. Yaygın kullanıldığı haliyle, yüzeyden yayılan ikincil elektronlarla yapılan ölçüm, özellikle yüzeyin topografik yapısıyla bağlantılı bir görüntü meydana getirmektedir

### 2.2.7. İyonik Sıvıların Biyosensörlerde Kullanımı

İyonik sıvılar son yıllarda kuramsal ve deneysel olarak yoğun şekilde çalışılmaktadır. İyonik sıvılar genellikle oda sıcaklığında sıvı olan düşük erime noktalı organik tuzlar olarak bilinir. Bununla birlikte, iyonik sıvılar sözcüğü; düşük sıcaklıkta ergimiş tuzlar, yüksek sıcaklıkta ergimiş tuzlar, iyonik akışkanlar, sıvı organik tuzlar gibi tanımların hepsini kapsar. Günümüzde iyonik sıvıların kullanıldığı birçok uygulama alanı vardır. Kimyada; metal eldesinde, kuru temizlemede, biyolojide; biyokütlelerin işlenmesinde, elektrokimyada; güneş panellerinde, pillerde, yakıt pillerinde, fizikte; ısı transferinde, maddenin difüzyon, viskozite gibi fiziksel özelliklerinin belirlenmesinde iyonik sıvılar kullanılmaktadır.

İyonik sıvıların, termal kararlılığının yüksek olması, düşük ölçülebilir buhar basıncına sahip olması, iletken olması, uçucu olmaması, toksisitesinin düşük olması ve biyouyumlu olması gibi özellikleri sayesinde elektrokimyasal biyosensör sistemlerinde de önemli bir uygulama alanı bulmuştur (Erdem et al., 2014; Yu et al., 2005; Wei and Ivaska, 2008; Wei et al., 2010; Zhang et al., 2013; Xi et al., 2008; Eksin et al., 2013a; She et al., 2010; Ren et al., 2010; Sengiz et al., 2015). Ren ve arkadaşları (2010) iyonik sıvı ve polianilin nanotüpler (PANINT) ile modifiye edilmiş yüzey baskılı elektrotlar kullanarak bir DNA sensörü geliştirmişlerdir. Eksin ve arkadaşları (2013a), iyonik sıvı ve kitosan modifiye kalem grafit elektrotlar (CHIT-IL-PGEs) ile bir antikanser ilacı olan mitomisin C (MC) ve DNA'nın etkileşimini elektrokimyasal olarak görüntülemişlerdir. She ve arkadaşları (2010), karbon pasta elektrot yüzeyine IL ile modifiye ederek yüzeyin hidrofobikliğini arttırarak hidrokinonu tayin etmişlerdir. Sengiz ve arkadaşları (2015) *Microcystis spp.* (MYC) ile ilgili DNA dizisinin seçici hibridizasyonunun elektrokimyasal olarak izlenebilmesi için IL modifiye kalem grafit elektrotları (IL-PGE) tasarlamışlardır.

### 2.3. mikroRNA

mikroRNA'lar 19-25 baz çiftinden oluşan küçük nükleotitlerdir. Ökaryotik hücrelerde bulunan, genomda protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamaya katılmayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, ancak proteine translasyonu olmayan, fonksiyonel RNA molekülleridir. İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek düzeyde korunmuş olan yüzlerce gen bölgesi aydınlatılmıştır. Günümüze kadar insan genomunda 1000'den fazla mikroRNA belirlenmiştir (Kim, 2005; Shenouda and Alahari, 2009).

miRNA'nın önemi, çeşitli yaşam süreçlerinde oynadığı karmaşık düzenleyici fonksiyonlardan ve bazı hastalıklarla olan yakın ilişkisinden kaynaklanmaktadır. Hastalıkların çoğunluğu (kanser, kalp yetmezliği, vasküler hastalık, diyabet, vb), hücre proliferasyonu, apoptoz, farklılaşma ve göç gibi temel hücresel süreç üzerindeki etkileri miRNA'ların düzenlenmesi ile ilgilidir (Hunt et al., 2009; Tüfekci et al., 2014). Kanser gelişim sürecine miRNA'ların katkısı olduğunun ilk kanıtı, Calin ve arkadaşlarının 2002 yılında Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda gerçekleştirdikleri moleküler çalışmayla belirlenmiştir. Calin ve arkadaşlarının, 2004 yılında yaptıkları diğer bir çalışmada, insan miRNA genlerinin kanser ile ilişkisini incelemek için, 186 adet miRNA geninin DNA üzerindeki pozisyonu belirlenerek ilişkili genlerin daha önceden bilinen bazı kanser türlerinin bağlantılı olduğu genetik farklanmalar ile karşılaştırılmıştır (Calin et al., 2002; Calin et al., 2004).

miRNA-34a, kanser başlangıcı, onkojenez ve tedaviye tümör yanıtı ile ilgilidir (Jin and Xiao, 2015). Literatüre bakıldığında miRNA-34a'nın kanser teşhisi (özellikle pankreas, servikal, göğüs kanseri ve lenfoma) (Lan et al., 2015; Waldman and Terzic; 2009, Bettazzi et al.,2013), kardiyovasküler hastalıklar (da Costa et al., 2010) ve Alzheimer hastalığı (Schonrock et al., 2012) için biyobelirteç olarak kullanılabilmesi bulunmuştur.



### 2.3.1. mikroRNA Tayinine Yönelik Elektrokimyasal Biyosensörler

mikroRNA tayininin elektrokimyasal olarak başarılı bir şekilde gerçekleştirilebildiğine dair literatürde pek çok çalışma bulunmaktadır. Elektrokimyasal yöntemlerle yapılan çalışmalardan bazıları Tablo 2.1’de görülmektedir. İzotermal amplifikasyon tabanlı yöntemler, northern blotlama, miRNA tayini için çok kullanılan ancak pahalı, karmaşık ve yerinde ölçüm için zaman alıcıdır. Bu geleneksel yöntemlerin aksine, biyosensör teknolojileri ile kombine edilen elektrokimyasal yöntemler spesifik bir tanıma yüzeyi sunarak, az miktarda örnek gerektiren ve yerinde ölçüme imkan sağlayan; ayrıca kısa zamanda duyarlı ve seçimli analizi mümkün kılan avantajlı sistemlerdir (Kilic et al., 2018).

**Tablo 2. 1.** Son yıllarda mikroRNA tayinine yönelik geliştirilen elektrokimyasal analiz yöntemlerine örnekler.

Analit	Çalışma Elektrodu	Yöntem	Tayin Sınırı	Kaynaklar
miRNA-15a	MUX-SPE16s	LSV	0,114 µg/mL	(Erdem et al., 2013)
miRNA-141	SPCE	CV, ECL	8,60 fM	(Feng et al., 2016)
miRNA-34a	GO/ PGE	CV, EIS	1,90 µg/mL	(Congur et al., 2015)
	GO-PGE	EIS	0,29 µg/mL	(Erdem et al., 2017)
	CNF-SPE	DPV, EIS	10,98 µg/mL	(Erdem et al., 2015)
miRNA-24	MWCNT/GCE	DPV	1 pM	(Li et al., 2014)
miRNA-122	GRP/ PGE	DPV, EIS	1,06 pM	(Kilic et al., 2016).

<b>Analit</b>	<b>Çalışma Elektrodu</b>	<b>Yöntem</b>	<b>Tayin Sınırı</b>	<b>Kaynaklar</b>
miRNA-155	MWCNT/GCE	CV, DPV	1,64 fM	(Cai et al., 2017)
	SPGE	DPV, CV, EIS	5,70 aM	(Cardoso et al., 2016)
	AuE	DPV, CV, EIS	13,50 pM	(Azimzadeh et al., 2015)
miRNA-159a	AuNP/GCE	EIS, DPV	0,17 pM	(Zhou et al., 2014)
miRNA-21	GRP /PGE	DPV, EIS	2,09 µg/mL	(Kilic et al., 2015)
	GO/AuNP/GCE	CV, EIS, ECL	10 aM	(Liu et al., 2017)
	AuNP/GCE	EIS	0,30 pM	(Azzouzi et al., 2017)
	AuNP/MoS <sub>2</sub> /GCE	CV, DPV, EIS	0,086 fM	(Shuai et al., 2017)
	GCE	CV, ECL	0,03 fM	(Zhang et al., 2017)
	AuE	DPV, CV, EIS	1,60 fM	(Miao et al., 2016)
	GO/GCE	LSV	60 fM	(Sun et al., 2015)
	AuNP/ AuE	DPV, EIS	0,006 pM	(Meng et al., 2013)

## 2.4. Mikotoksinler ve Fumonisin B1

Mikotoksin kelimesi mykes (Yunanca, mantar) ve toxicum (Latince, zehir) kelimelerinden meydana gelmektedir. Çevre şartlarının üremeye uygun olması durumunda mikotoksin üreten yaklaşık 400 adet küf türü olduğu bilinmektedir. Bu türlerden *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* genuslarına ait olan türler insan ve hayvanlarda ciddi sağlık sorunlarına sebep olan mikotoksinleri oluşturabilmektedirler.

Fumonisin B1 (FB1), deoksinivalenol (DON), okratoksin A (OTA) ve zearalenon gibi mikotoksinler, belirli mantarlar tarafından üretilen bir grup toksik sekonder metabolitlerdir. FB1, gıdalara ve hayvan yemlerine doğal olarak bulaşarak ürün kalitesini düşüren, insanlar ve hayvanlar için ciddi sağlık riski oluşturan ve dünya çapında ciddi ekonomik kayıplara neden olan bir mikotoksindir (Frisvad and Thrane, 1987; CAST, 2003).

FB1, genellikle mısır ve diğer tarımsal ürünleri enfekte eden *Fusarium verticillioides* mantarı tarafından üretilen bir mikotoksindir. FB1 ile indüklenen toksisitenin arkasındaki hücresel mekanizmalar arasında, sitokin ekspresyonundaki değişikliklerin yanı sıra, oksidatif stres, apoptoz ve sitotoksitenin uyarılması yer alır. FB1'in etkileri, hangi türe ait ve hangi tipteki hücrelerin çalışıldığına bağlı olarak belirgin şekilde farklılık gösterir. Bir çalışmada, Fischer sıçanları ve B6C3F1 farelerinin karaciğeri üzerinde karsinogenisitesi olduğunu bildirilmiştir (Howard et al., 2001). Mısırdaki FB1 varlığı, insanlarda özofagus ve karaciğer kanserlerinin görülme sıklığında bir artışla ilişkilendirilmiştir (Alizadeh et al., 2012; Ueno et al., 1997) Klaric ve arkadaşları (2008), FB1'in Böbrek PK15 hücrelerinde genotoksik olduğunu, baskın olarak klastojenik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. FB1 nispeten düşük konsantrasyonlarda etkilidir, etkileri FB1 ile kontamine yem ve gıda tüketimini takiben hayvanlarda ve insanlarda da görülebilir.

#### 2.4.1. Fumonisin B1 Tayinine Yönelik Biyosensörler

Genel olarak FB1 tayin yöntemleri incelendiğinde, immünokromatografik analiz (Venkataramana et al., 2014), ince tabaka kromatografisi (TLC) (Klaric et al., 2008), enzim bağlantılı immünosorban testi (ELISA) (Sheng et al., 2012; Ling et al., 2014; Shu et al., 2016) gibi pahalı, karmaşık, kullanımı zor ve yerinde ölçüm için uygun olmayan yöntemler uygulanmaktadır. Elektrokimyasal yöntemler ile mikotoksinlerin analiz edilebilmesi, zaman kazandıran, spesifik tanıma süreci sunan ve az miktarda numune gerektiren basit analizler sağlaması nedeniyle daha avantajlıdır.

FB1 tayinine yönelik aptamer bazlı elektrokimyasal immünosensörler (Lu et al., 2016; Yang et al., 2015; Masikini et al., 2016; Shi et al., 2015) geliştirilmiştir. Geliştirilen immünosensörlere örnek olarak; Lu ve arkadaşları (2016), FB1 ve DON'un saptanması için bir elektrokimyasal immünosensör yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışma elektrodu olarak tek kullanımlık yüzey baskılı karbon elektrot (SPE) kullanmışlardır. FB1'in duyarlı bir şekilde tayin edilebilmesi için SPE yüzeyi altın nanopartiküller (AuNP'ler), polipirol (PPy) ve elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit (ErGO) nanokompozit modifiye edilmiştir. Yang ve arkadaşları (2015), tek duvarlı karbon nanotüp ve kitosan modifiye camısı karbon elektrot kullanarak mısırdaki FB1'i tayin için elektrokimyasal bir immünosensör tasarlamışlardır.

#### 2.4.2. DNA Hedefli Türlerin DNA Biyosensörleri ile Algılanması

Günümüzde ilaç-DNA etkileşiminin tayini, başarılı bir şekilde elektrokimyasal DNA biyosensörleri kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir. İlaç-DNA etkileşmesi sonucunda bazlarına ait sinyallerde veya incelenen ilaç sinyalinde ya da yüzey direncinde meydana gelen değişiklikler izlenerek ilaç-DNA etkileşim türü hakkında bilgi edinilebilmektedir (Erdem and Congur, 2013; Levision et al., 1998; Erdem et al, 2012a; Yapasan et al., 2010; Eksin et al., 2013a; Top et al., 2016; Altay et al., 2015; Canavar et al., 2015; Unal et al., 2018; Dogan-Topal and Ozkan, 2011; Karimi-aleh et al., 2015). Tablo 2.2'de farklı ilaçların DNA ile etkileşimlerinin DNA biyosensörleri ile elektrokimyasal olarak tayin edilmesine yönelik örnekler verilmiştir.

**Tablo 2.2.** Antikanser ilaç-DNA etkileşiminin elektrokimyasal DNA biyosensörleri ile tayini.

Analit	Çalışma Elektrodu	Çalışma Yöntemi	Tayin sınırı	Kaynaklar
Bleomisin	PGE	EIS	1,63 µg/mL	(Erdem et al., 2013)
Topoizomeraz I inhibitör topotekan	SPE	EIS	-	(Top et al., 2016)
6-Tioguanin	PGE	DPV,EIS	4,60 µg/mL	(Eksin et al., 2014)
Daunorubisin	PGE	DPV,EIS	0,55 µM	(Erdem et al., 2011)
Temozolamid	PGE	DPV,EIS	6,1 µg/mL	(Altay et al., 2015)
Mitomisin C	PGE	DPV,EIS	11,01 µg/mL	(Canavar et al.,2015)
Daunorubisin	PGE	DPV	0,24 µM	(Unal et al., 2018)
Löprolid	PGE	DPV	0,06 µg/mL	(Dogan-Topal et al.,2011)
6-Merkaptopürin	PGE	DPV	0,08 µM	(Karimi-aleh et al., 2015)



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Cihazlar

Terazi (Mettler Toledo AB204-S)

pH-metre (Orion 420A)

Manyetik karıştırıcı (Biosan MS 3000)

Vorteks (Biosan V1)

Çalkalayıcı ( Biosan TS 100C)

Ses titreşimli temizleyici (Bandelin Sonorex)

Potansiyostat - FRA 2 modülü içeren AUTOLAB 302, GPES 4,9 yazılımlı,  
(Eco Chemie, Hollanda)

Faraday kafesi

Kalem grafit elektrot (Tombo, Japonya)

Ag/AgCl referans elektrot (BAS)

Platin tel (Yardımcı elektrot olarak kullanıldı)

#### 3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

##### **mikroRNA-34a hedef RNA dizisi:**

- 5'-UGG CAG UGU CUU AGC UGG UUG U-3' (U= Urasil)

##### **Amino ile işaretlenmiş mikroRNA-34a'ya spesifik DNA prob dizisi:**

- 5'-NH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-ACA ACC AGC TAA GAC ACT GCC A-3'

##### **Rastgele RNA dizileri (NC):**

- mikroRNA-155 dizisi: 5'-UUA AUG CUA AUC GUG AUA GGG  
GU-3'
- mikroRNA-181b dizisi: 5'-AAC AUU CAU UGC UGU CGG UGG  
GU-3'

Yapay fetal sığır serumu (FBS) (Sigma-Aldrich)

1-bütül 3-metilimidazolyum hekzaflorofosfat (Sigma)-İyonik sıvı

N-hidroksisüksinimid (NHS) (Sigma-Aldrich)

N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etil karbodiimid (EDC) (Sigma-Aldrich)

Tris(hidroksimetil)aminometan hidroklorür (Sigma)

Sodyum klorür (Sigma)

EDTA disodyum tuzu (Sigma)

Asetik asit ( %99-100) (Sigma)

Hidroklorik asit (%37) (Merck)

Sodyum Hidroksit (Merck)

Dipotasyummonohidrojenfosfat (Sigma)

Potasyumdihidrojenfosfat (Sigma)

N,N-dimetilformamid (DMF) (Sigma)

Dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma)

Fumonisin B1 (FB1) (Sigma)

Zearalenon (ZEN) (Sigma)

Deoksinivalenol (DON) (Sigma)

Okratoksin A (OTA) (Sigma)

Balık sperminden elde edilen çift sarmal DNA (dsDNA) (Sigma)

Tüm deneylerde ultra saf su kullanıldı. Çalışmalar oda sıcaklığında ( $25,0 \pm 0,5$ ) °C' de yapıldı.





### 3.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

#### 3.3.1 Tampon Çözeltilerin Hazırlanışı

Tampon çözeltilerin hepsinin hazırlanışında ultra saf su kullandı. Tampon çözeltiler hazırlanmasından sonra cam şişelerde, +4 °C'de buzdolabında muhafaza edildi.

##### **0,05 M fosfat tamponunun hazırlanışı (pH 7,4; PBS):**

Kullanılan 0,05 M fosfat tampon çözeltisi litresinde 1,36 g (0,01 mol)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 6,96 g (0,04 mol)  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  ve 1,168 g NaCl (0,02 mol) bulundurmaktadır. Elde edilen tampon çözeltisinin pH değeri yaklaşık 7,4 olmaktadır. Çözeltinin pH'sı gerekiyorsa, 0,1 N NaOH ve / veya 0,1 N HCl ilavesiyle pH metre ile 7,4'e ayarlandı.

##### **0,05 M asetat tamponunun hazırlanışı (pH 4,8; ABS):**

0,05 M asetat tamponu litresinde 0,2722 g sodyum asetat trihidrat, 0,1154 mL asetik asit ve 1,168 g NaCl (0,02 mol) bulundurmaktadır. Çözeltinin pH'sının 4,8 değerine ayarlanması, 0,1 N NaOH ve/veya 0,1 N HCl eklenmesiyle, pH metre ile kontrol edilerek gerçekleştirildi.

##### **0,02 M Tris HCl tamponunun hazırlanışı (pH 7,0; TBS):**

0,02 M Tris HCl tampon çözeltisi litresinde 3,152 g Trizma HCl ve 1,168 g NaCl (0,02 mol) bulundurmaktadır. Çözeltinin pH'sının 7,0 değerine ayarlanması, 0,1 N NaOH ve / veya 0,1 N HCl eklenmesiyle, pH metre ile kontrol edilerek gerçekleştirildi.

##### **0,01 M Tris-HCl, 1 mM EDTA tamponunun hazırlanışı (pH 8,0; Tris-EDTA):**

0,01 M Tris-HCl, 1 mM EDTA tampon çözeltisi litresinde 1,576 g Trizma HCl ve 0,372 g EDTA bulundurmaktadır. Çözeltinin pH'sının 8,0 değerine ayarlanması, 0,1 N NaOH ve/veya 0,1 N HCl eklenmesiyle, pH metre ile kontrol edilerek gerçekleştirildi.

##### **Redoks probu çözeltisinin hazırlanışı:**

EIS ölçümleri için:  $2,5 \times 10^{-3}$  mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  ve 100 mM KCl içerecek şekilde 100 mL saf su içerisinde hazırlandı.

CV ölçümleri için:  $2 \times 10^{-3}$  mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  ve 100 mM KCl içerecek şekilde 100 mL saf su içerisinde hazırlandı.

### 3.3.2. miRNA, DNA ve Oligonükleotit Çözeltilerinin Hazırlanışı

miRNA-34a hedef RNA dizisi, miRNA-34a DNA prob dizisi, miRNA-155 ve miRNA-181b stok çözeltileri, 500 µg/mL olacak şekilde 0,01 M Tris-EDTA (pH: 8,0) ile hazırlandı ve sıfır derecenin altında buzdolabında saklandı. Denemeler sırasında stok çözeltiler 0,05 M PBS ile seyreltildi.

Çalışmalarımızda kullanılan dsDNA, Sigma firmasından liyofilize toz halde temin edildi. dsDNA stok çözeltisi ile ultra saf su ile 1000 µg/mL derişiminde hazırlandı ve buzdolabında sıfır derecenin altında muhafaza edildi. Denemeler sırasında stok çözelti taze olarak 0,05 M ABS (pH: 4,8) ile seyreltildi.

### 3.3.3. Yapay Fetal Sığır Serumunun Hazırlanışı

Sigma-Aldrich firmasından temin edilen, içeriğinde büyüme faktörleri, proteinler, vitaminler, eser elementler, hormonlar vb. düşük ve yüksek molekül ağırlıklı biyomoleküller bulunan yapay fetal sığır serum (FBS) taze olarak PBS (pH 7,4) içerisinde hazırlandı.

### 3.3.4. Fumonisin B1 ve Diğer Mikotoksinlerin Hazırlanışı

FB1, DON ve OTA stok çözeltisi asetonitril içerisinde (50 µg/mL) çözünmüş olarak temin edildi. Seyreltik çözeltiler 0,05 M PBS (pH: 7,4) ile hazırlandı. Katı halde bulunan ZEN'in stok çözeltisi DMSO ile hazırlandıktan sonra sıfır derecenin altında saklandı. Denemeler sırasında PBS (pH: 7,4) ile seyreltildi.

### 3.3.5. Kullanılan Tek Kullanımlık Kalem Grafit Elektrodun (PGE)

#### Hazırlanışı

Çalışmalarımızda kullanılan tek kullanımlık kalem grafit elektrot (PGE), Tombo kalem uçlarınının 3,0 cm boyutunda kesilmesi sonucunda elde edildi (Erdem et al., 2017; Erdem et al., 2013; Isin et al., 2017; Eksin et al., 2013a; Sengiz et al., 2015) Kalem ucunun 1,0 cm'lik kısmı elektrokimyasal hücre içerisinde kalacak şekilde kalem içerisine yerleştirildi.

Çalışmamızda, PGE'nin yüzey aktivasyonu, 30 saniye süreyle +1,4 V uygulanarak ABS (pH=4,8) içinde yapıldı.

### 3.3.6. Kalem Grafit Elektrot Modifikasyonunda Kullanılan Çözeltilerin

#### Hazırlanışı

##### 3.3.6.1. Kovalent Bağlayıcı Ajan (CA)

Toz halde bulunan NHS ve EDC sırasıyla 4,6 mg ve 4,8 mg tartılarak 5 mM olacak şekilde 0,05 M PBS (pH: 7,4) içerisinde taze hazırlandı ve buzdolabında saklandı.

##### 3.3.6.2. İyonik Sıvı (IL) Çözeltisinin Hazırlanışı

%20 IL çözeltisi, dimetilformamid (DMF) çözeltisi içerisinde 30 dakika boyunca sonikatörde bekletilerek taze hazırlandı (Sengiz et al., 2015).

##### 3.3.7. Dönüşümlü Voltametri (CV) Ölçümleri

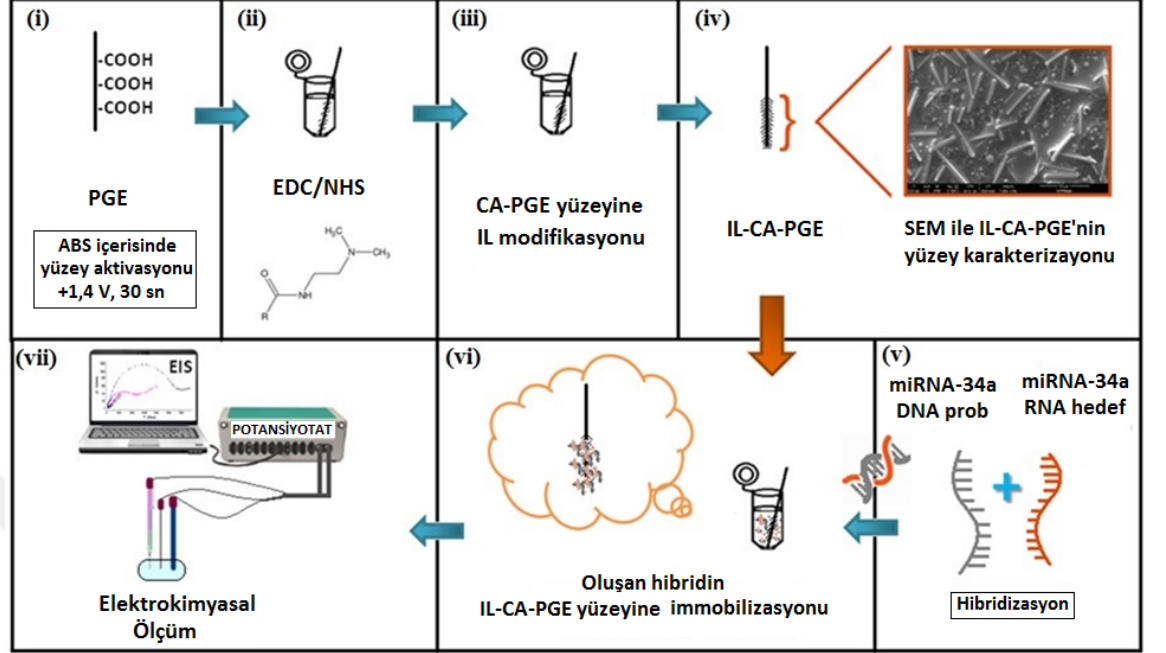
CV ölçümleri, 0,1 M KCl içinde hazırlanan 2,0 mM  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  (1:1) karışımını içeren redoks probu içerisinde 50 mV/s tarama hızında, -0,50 V ve +1,00 V aralığında tarama yapılarak gerçekleştirildi.

##### 3.3.8. Empedans (EIS) Ölçümleri

EIS ölçümleri, 0,1 M KCl içinde hazırlanan 2,5 mM  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  (1:1) karışımını içeren redoks probu içinde gerçekleştirildi. Empedans, 10 mV sinüsoidal sinyal ile Ag/AgCl'ye karşı +0,23 V potansiyelde  $10^{-1}$  Hz ile  $10^6$  kHz frekans aralığında ölçüldü. Frekans aralığı, logaritmik olarak 98 eşit ölçüm noktasına bölünmüştür. Yük transfer direnci, AUTOLAB 302 (FRA, version 4.9, Eco Chemie, Hollanda) programıyla hesaplanan yarım dairenin çap değerlerine karşılık gelmektedir.

### 3.4. İyonik Sıvı ile Modifiye Edilmiş Kalem Grafit Elektrotlarla miRNA-34a'nın Empedimetrik Tayini

Deneysel prosedür Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. miRNA-34a'nın IL-CA-PGE ile empedimetrik tayinine yönelik deneysel prosedür: (i) PGE'nin elektrokimyasal olarak yüzey aktivasyonu, (ii) EDC/NHS ile yüzeyin kovalent aktivasyonu, (iii) CA-PGE yüzeyine IL modifikasyonu, (iv) IL-CA-PGE'nin mikroskopik karakterizasyonu, (v) miRNA-34a DNA prob dizisi ile miRNA-34a hedef dizisi arasında hibridizasyonun gerçekleşmesi, (vi) IL-CA-PGE yüzeyine hibritin immobilizasyonu, (vii) hibrid modifiye IL-CA-PGE ile EIS yöntemi kullanılarak empedimetrik ölçümün gerçekleştirilmesi.

#### 3.4.1. Kalem Grafit Elektrotların (PGE) Yüzeyine Kovalent Bağlayıcı Ajan ve IL Modifikasyonu:

PGE yüzeyi 3.3.5'de anlatıldığı şekilde elektrokimyasal olarak aktive edildikten sonra elektrotlar kovalent bağlayıcı ajan (CA: 5 mM EDC-NHS çözeltisi) içerisinde 1 saat süreyle buzdolabında bekletildi. Daha sonra elektrot PBS (pH: 7,4) çözeltisi ile 10 saniye boyunca yıkandı (Erdem et al., 2017). Hazırlanan CA-PGE elektrotlar 3.3.6.2'de anlatıldığı gibi hazırlanan % 20'lik IL çözeltisine daldırılarak 15 dakika boyunca ıslak adsorpsiyon yöntemiyle CA-PGE yüzeyine IL modifikasyonu sağlandı. IL modifiye edilmiş CA-PGE elektrotlar (IL-CA-PGE) 30 dakika süreyle oda sıcaklığında kurutuldu (Sengiz et al., 2015).

### **3.4.2. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesi**

PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE yüzeyleri ile 3.3.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanan redoks probu çözeltisi içerisinde EIS tekniği ile ölçümleri gerçekleştirildi ve transfer edilen yüke karşı oluşan direnç (Rct) değerleri ölçüldü.

### **3.4.3. PGE-CA Yüzeyine Modifiye Edilen IL Konsantrasyonundaki Değişimin Yanıtı Olan Etkisinin İncelenmesi**

Bu çalışmada % 5, % 10, % 15, % 20, % 25 ve % 30 olacak şekilde farklı IL konsantrasyonlarında hazırlanan IL-CA-PGE'ler kullanıldı. IL'in yüzeye modifikasyonu 3.4.1'de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi. Dönüşümlü voltametri yöntemi ile 3.3.7'de anlatılan şekilde ölçüm alındı.

### **3.4.4. IL Modifikasyon Süresindeki Değişimin Yanıtı Olan Etkisinin İncelenmesi**

% 20 IL çözeltisi modifikasyonu CA-PGE yüzeyine 15, 30 ve 60 dakika olacak şekilde pasif adsorpsiyon yöntemiyle 3.4.1'deki gibi gerçekleştirildi. Farklı sürelerde modifikasyon sonrasında elektrotlar (IL-CA-PGE), 30 dakika oda sıcaklığında kurutulduktan sonra 3.3.8'de anlatıldığı gibi empedans ölçümü gerçekleştirildi.

### **3.4.5. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerine miRNA-34a Prob İmmobilizasyonunun Empedimetrik Yöntemle İncelenmesi**

PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE yüzeylerine 1 µg/mL miRNA-34a prob 30 dakika boyunca pasif adsorpsiyon yöntemi ile immobilize edildikten sonra 10 saniye boyunca PBS (pH:7,4) ile yıkandı. Yüzeyine prob immobilize edilen her bir elektrot ile 3.3.8' de anlatıldığı şekilde empedans ölçümü gerçekleştirildi.

### **3.4.6. PGE, CA-PGE, IL-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin SEM ile Karakterizasyonu**

PGE, CA-PGE, IL-PGE ve IL-CA-PGE yüzeylerinin mikroskopik karakterizasyonu, 5 µM, 10 µM ve 50 µM'lik farklı büyütme alan emisyonu

taramalı elektron mikrobu ile (hızlandırma potansiyeli 5.0 kV) İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü'nde uzman personel varlığında hizmet alımı ile gerçekleştirildi.

### **3.4.7. miRNA-34a Prob Dizisi Konsantrasyonundaki Değişimin Yanıt Etkisinin İncelenmesi**

Çözelti fazında hibridizasyonda prob ve hedef dizi arasında hibrit oluşturulurken yalancı hibridizasyonda çözelti ortamına prob ve hedef yerine tampon çözeltisi konularak örnekler hazırlandı (Erdem et al., 2017). Prob konsantrasyon çalışmasında 0,5 µg/mL, 1 µg/mL ve 1,5 µg/mL konsantrasyonları çalışıldı. Hedef konsantrasyonu 10 µg/mL olarak sabit tutuldu.

**Yalancı hibridizasyon:** IL-CA-PGE'ler, 0,5 µg/mL, 1 µg/mL ve 1,5 µg/mL amino işaretli prob çözeltisi PBS (pH: 7,4) içerisinde hazırlandı. 5 dakika boyunca yalancı hibridizasyonun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 400 rpm hızla karıştırıldı.

**Hibridizasyon:** IL-CA-PGE'ler, 0,5 µg/mL, 1 µg/mL ve 1,5 µg/mL amino işaretli prob çözeltisi ile 10 µg/mL miRNA-34a hedef hibridizasyonu sonucu oluşan örnekler daldırıldı. Hibrit örnekleri 5 dakika boyunca hibridizasyonun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 400 rpm hızda karıştırıldı.

Oluşan yalancı hibrit (prob kontrolü) ve hibrid IL-CA-PGE yüzeyine 30 dakika boyunca pasif adsorpsiyon yöntemi ile oda sıcaklığında immobilize edildi. Daha sonra çözeltilerden çıkarılan elektrotlar 10 saniye boyunca PBS (pH: 7,4) ile yıkandı. Her bir konsantrasyon için hazırlanan elektrotlar ile 3.3.8'de anlatıldığı gibi empedans ölçümü gerçekleştirildi.

### **3.4.8. miRNA-34a prob ve Hedef Dizi Arasındaki Hibridizasyon Süresindeki Değişimin Yanıt Olan Etkisinin İncelenmesi**

1 µg/mL miRNA-34a prob ile 10 µg/mL hedef miRNA-34a dizileri kullanılarak 3.4.5'de anlatıldığı gibi hibridizasyon basamağı gerçekleştirildi. 5 dk, 15 dk ve 30 dk süreyle hibridizasyonun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 400 rpm hızla karıştırıldı. Yalancı hibrit ve hibrit, IL-CA-PGE yüzeyine 30 dakika boyunca pasif adsorpsiyon yöntemi ile oda sıcaklığında immobilize edildi.

Sonrasında çözeltilerden çıkarılan elektrotlar 10 saniye boyunca PBS (pH: 7,4) ile yıkandı. Ölçüm empedimetrik olarak 3.3.8’de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi.

### **3.4.9. IL-CA-PGE Yüzeyine Hibritin Pasif Adsorpsiyon ile İmmobilizasyon Süresindeki Değişimin Yanıt Olan Etkisinin İncelenmesi**

1 µg/mL miRNA-34a prob ile 10 µg/mL hedef miRNA-34a dizileri kullanılarak 3.4.5’de anlatıldığı gibi hibridizasyon basamağı gerçekleştirildi. 5 dk süreyle hibridizasyonunun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 400 rpm hızla karıştırıldı. Yalancı hibrit ve hibrit IL-CA-PGE yüzeyine pasif adsorpsiyon yöntemi ile 5 dk, 15 dk, 30 dk ve 45 dk süreyle immobilize edildi. Çözeltilerden çıkarılan elektrotlar 10 saniye boyunca PBS (pH: 7,4) ile yıkandı. Ölçüm empedimetrik olarak 3.3.8’de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi.

### **3.4.10. Hedef miRNA-34a Konsantrasyonundaki Değişimin Hibridizasyon Yanıtına Olan Etkisinin İncelenmesi**

1 µg/mL miRNA-34a prob ile farklı konsantrasyonlarda hedef miRNA-34a dizileri kullanılarak 3.4.7’de anlatıldığı gibi hibridizasyon basamağı gerçekleştirildi. 5 dk hibridizasyon sonrasında oluşan hibrit 30 dk süreyle pasif adsorpsiyon yöntemiyle elektrot yüzeyine immobilize edildi ve PBS ile 10 saniye yıkandı. Ortamdaki hedef miRNA konsantrasyonu 2 µg/mL’den 12 µg/mL’ye artırıldı ve bu konsantrasyon değişiminin sensör cevabına olan etkisi araştırıldı. Hazırlanan hibrid modifiye IL-CA-PGE’ler ile 3.3.8’de anlatıldığı gibi empedans ölçümü gerçekleştirildi.

### **3.4.11. miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışması**

1 µg/mL miRNA-34a prob ile 10 µg/mL miRNA-34a hedef ve rastgele (NC) miRNA çözeltileri viyallere aktararak 3.4.6’da anlatıldığı gibi hibridizasyon basamağı gerçekleştirildi. 5 dk hibridizasyon sonrasında oluşan hibrit 30 dk boyunca pasif adsorpsiyon yöntemiyle elektrot yüzeyine immobilize edildi ve PBS ile 10 saniye yıkandı. miRNA-34a’dan farklı olarak ortamda bulunabilecek diğer miRNA’ların etkisi incelendi. miRNA-155 ve miRNA-181b, rastgele (NC) miRNA



dizileri olarak kullanıldı. Ölçüm empedimetrik olarak 3.3.8’de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi.

#### **3.4.12. Yapay Fetal Sığır Serumun Seyreltilme Oranının Çalışılması**

Serum ortamında girişim yapabilecek çok sayıda madde olduğu için uygun seyreltilme oranı seçilerek hibridizasyonu gerçekleştirildi. Bu amaçla yapay fetal sığır serumu (FBS) 1:1, 1:5, 1:10 ve 1:20 oranlarında olacak şekilde PBS (pH: 7,4) ile seyreltildi. 1 µg/mL miRNA-34a prob çözeltisi belirli oranlarda seyreltilen FBS çözeltileri içerisinde 3.4.5’de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Hibrit yüzeye 30 dakika süreyle pasif adsorpsiyon yöntemiyle immobilize edildikten sonra 10 saniye boyunca PBS ile yıkandı. Empedans ölçümü 3.3.8’de anlatılan şekilde gerçekleştirildi.

#### **3.4.13. Yapay Fetal Sığır Serum Ortamında Hedef miRNA-34a Konsantrasyonu Çalışması**

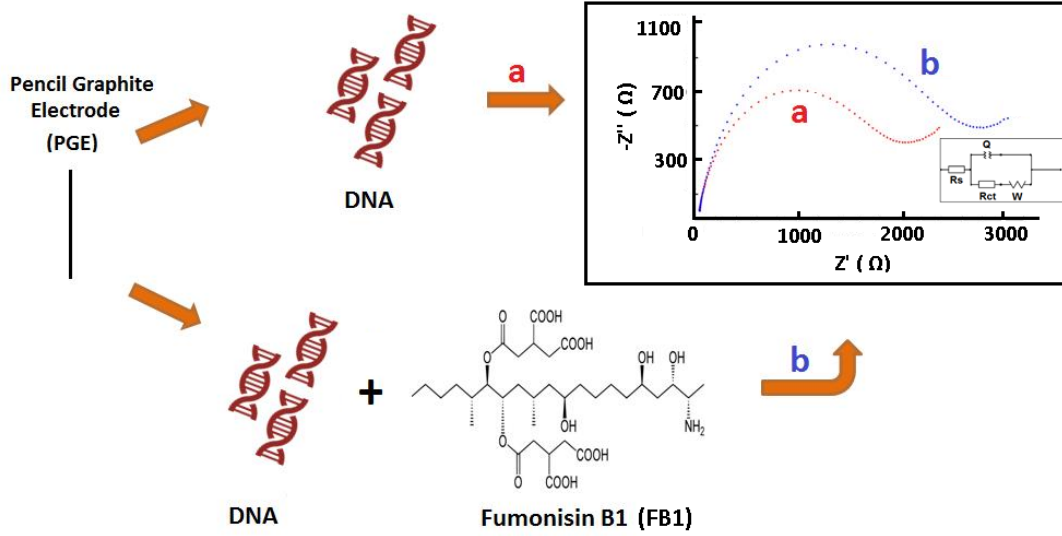
Bu çalışma, 3.4.10’da anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi ve aynı hedef dizi konsantrasyon aralığı (2-12 µg/mL) kullanıldı ve hedef dizi hazırlanırken seyreltmeler PBS yerine 1:10 oranında FBS:PBS karışımı kullanılarak yapıldı. Empedans ölçümü 3.3.8’de anlatılan şekilde gerçekleştirildi.

#### **3.4.14. Yapay Fetal Sığır Serum Ortamında miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışması**

miRNA-155 ve miRNA-181b, rastgele (NC) miRNA dizileri olarak kullanılarak 3.4.11’de anlatıldığı şekilde hibridizasyon gerçekleştirildi. Yapay serum ortamının etkisini görebilmek amacıyla prob, miRNA-34a hedef ve rastgele miRNA çözeltileri 1:10 oranında FBS:PBS karışımı ile seyreltildi. Empedans ölçümü 3.3.8’de anlatılan şekilde gerçekleştirildi.

### 3.5. DNA İmmobilize Edilmiş Kalem Grafit Elektrot Yüzeyinde Fumonisin-B1-DNA Etkileşiminin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesi

Deneysel prosedür Şekil 3.2’de gösterildi.



Şekil 3.2. PGE yüzeyinde FB1 ile DNA'nın etkileşiminin empedimetrik tayinine yönelik deneysel prosedür: (a) DNA modifiye PGE, (b) FB1 ile DNA'nın PGE yüzeyinde etkileşimi sonrası.

#### 3.5.1. DNA Konsantrasyonu Çalışması

Elektrotlar 3.3.5’de anlatıldığı gibi hazırlandıktan sonra 2,5-12,5  $\mu\text{g/mL}$  DNA çözeltilerini içeren viyalere daldırıldı ve 10 dakika viyaller içerisinde bekletildi (Erdem and Congur, 2013). Bu süre sonunda DNA immobilize edilmiş elektrotlar (DNA-PGE) ABS ile 10 saniye yıkandı. EIS ölçümleri 3.3.8’de anlatılan yönteme göre gerçekleştirildi.

#### 3.5.2. Fumonisin-B1 Konsantrasyon Çalışması

Elektrotlar 3.3.5’de anlatıldığı gibi hazırlandıktan sonra 10-50  $\text{ng/mL}$ 'ye FB1 çözeltilerini içeren viyalere daldırıldı ve 5 dakika viyaller içerisinde bekletildi. Bu süre sonunda FB1 immobilize edilmiş elektrotlar 10 saniye boyunca PBS ile yıkandı. EIS ölçümleri 3.3.8’de anlatılan yönteme göre gerçekleştirildi.

### **3.5.3. PGE, DNA-PGE, FB1-PGE ve FB1-DNA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesi**

PGE yüzeyi, 3.3.5’de anlatıldığı şekilde DNA-PGE yüzeyi, 3.5.1’de anlatıldığı şekilde FB1-PGE yüzeyi ise 3.5.2’deki gibi hazırlandı. PGE yüzeyinde FB1-DNA etkileşimi için, elektrotlar öncelikle 10 dakika boyunca 10 µg/mL DNA çözeltisi içerisinde bekletildi, ABS ile yıkandı. Daha sonra 40 ng/mL FB1 çözeltisi içerisinde 5 dakika tutuldu ve PBS ile yıkandı. Empedimetrik ölçümler 3.3.8’de anlatılan yöntemle göre gerçekleştirildi.

### **3.5.4. Etkileşim Süresindeki Değişimin Biyosensörün Yanıtına Etkisinin İncelenmesi**

DNA immobilize edilmiş elektrotlar 1 dk, 3 dk, 5 dk, 15 dk ve 30 dk gibi farklı sürelerde FB1 çözeltisi içerisinde tutuldu ve sonrasında 10 saniye boyunca PBS ile yıkandı. EIS ölçümleri 3.3.8’de anlatılan yöntemle göre gerçekleştirildi.

### **3.5.5. Farklı Mikotoksinler Varlığında Seçimlilik Çalışması**

DNA immobilize edilmiş elektrotlar FB1’in yanısıra ZEN, DON ve OTA olmak üzere farklı mikotoksinlerin 1:1 karşımında 3 dakika boyunca bekletildi. Daha sonra PBS ile 10 dakika boyunca yıkandı. Empedimetrik ölçümler 3.3.8’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi.

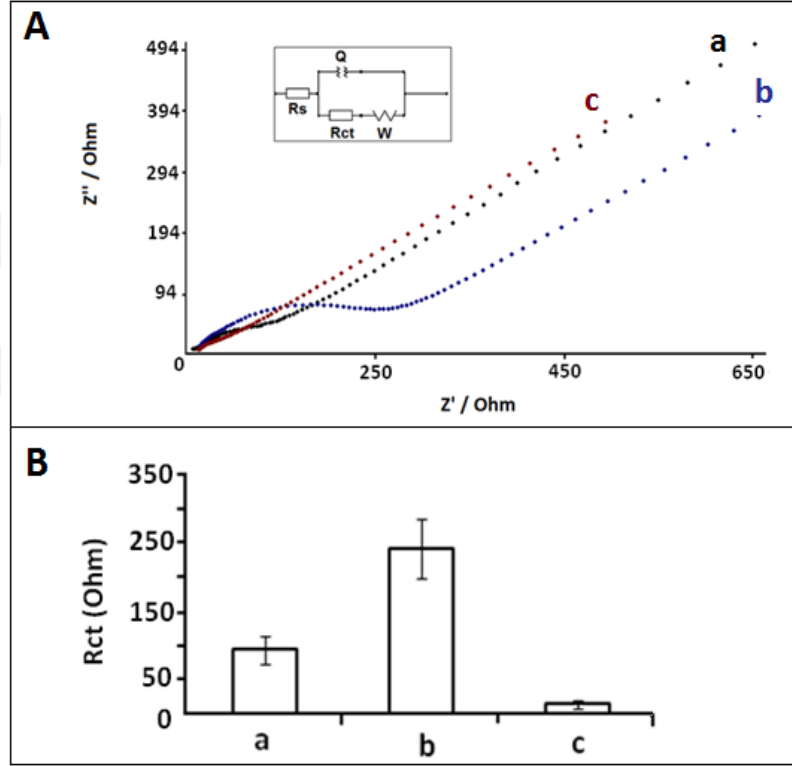


## 4.BULGULAR

### 4.1. IL-CA Modifiye PGE ile miRNA-34a'nın Empedimetrik Tayinine İlişkin Bulgular

#### 4.1.1. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesi

PGE, CA modifiye edilmiş ve IL-CA modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal davranışı, elektrokimyasal empedans spektroskopisi tekniğiyle incelendi. Ölçümler 3.3.8.'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.1.'de verildi.

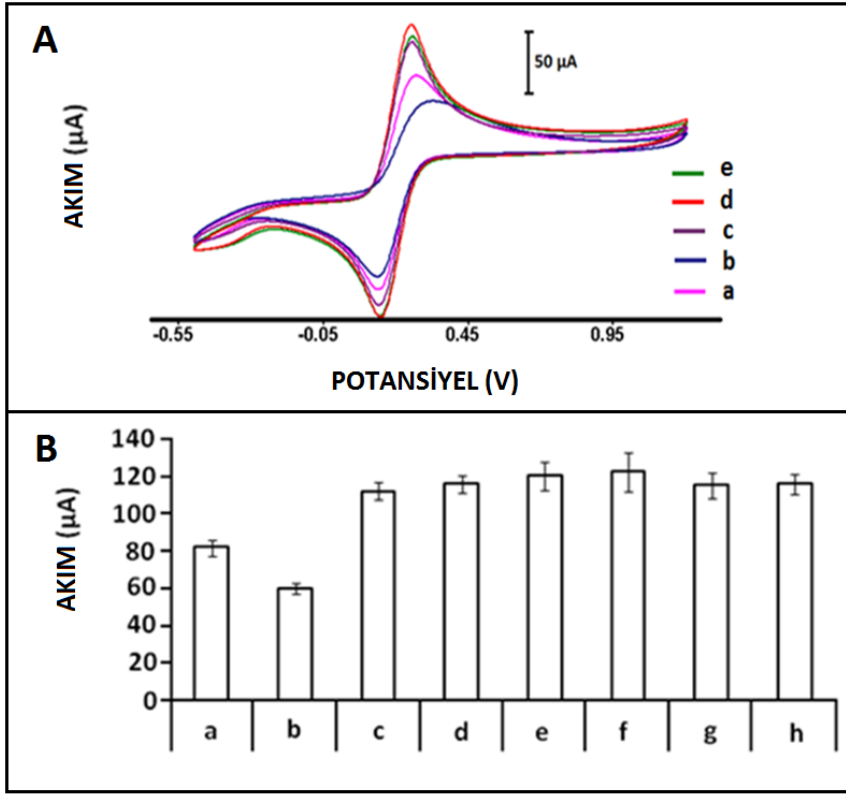


**Şekil 4.1.** (A) (a) PGE, (b) CA-PGE, (c)IL-CA-PGE' ait Nyquist diyagramları. (B) (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) IL-CA-PGE ile ölçülen ortalama Rct değerlerini (n = 3) gösteren histogramlar.

Empedans değerlerine uygun olan devre modeli, iç Şekil 4.1-A'da gösterilmiştir. Empedans verilerini düzenlemede eşdeğer devre modeli R(Q(RW)) kullanılmıştır. İlgili parametreler;  $R_s$  çözelti direncidir. Sabit faz elementi (Q) , elektrot/elektrolit ara yüzeyindeki boşluk yük kapasitansına bağlıdır. Rct ise elektrot/elektrolit ara yüzeyindeki yük transfer direncidir. Sabit faz element W, elektrot yüzeyinde kütle transferinden kaynaklanan Warburg empedansını göstermektedir.

#### 4.1.2. PGE, CA-PGE ve Farklı Konsantrasyonlarda IL Modifiye Edilmiş IL-CA-PGE Yüzeylerinin CV Tekniği İle Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi:

PGE, CA modifiye edilmiş ve farklı konsantrasyonlarda IL modifiye edilmiş IL-CA modifiye elektrotların elektrokimyasal davranışı, dönüşümlü voltametri tekniğiyle karşılaştırıldı. Ölçümler 3.3.7.'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen voltamogramlar ve histogramlar Şekil 4.2'de verildi. Farklı IL konsantrasyonları ile elde ölçülen ortalama anodik pik akımı ( $I_a$ ), ortalama katodik pik akımı ( $I_c$ ), anodik yük geçişi ( $Q_c$ ) ve katodik yük geçişi ( $Q_c$ ) verileri Tablo 4.1'de verilmiştir. Ayrıca, her bir elektroda ait yüzey alanı (A) Cottrell denklemi kullanılarak hesaplandı (Tablo 4.1).



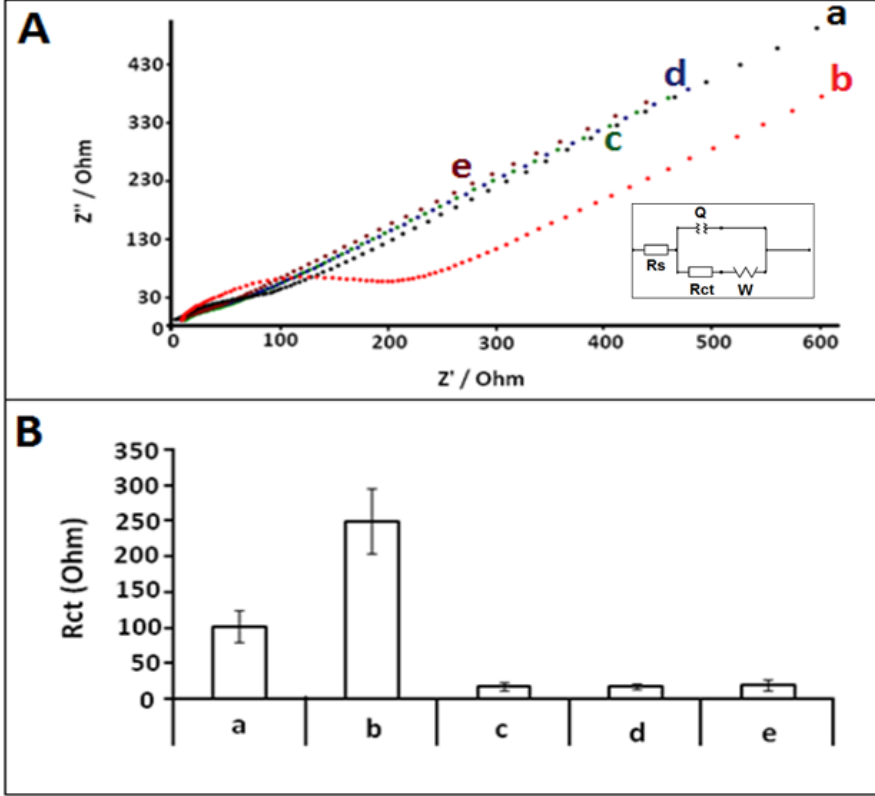
Şekil 4.2. (A) (a) PGE (b) CA-PGE, (c) %10 (d) %20 (e) %30 IL modifiye CA-PGE ile elde edilen voltamogramlar.(B) (a) PGE, (b) CA/PGE, (c) %5, (d) %10, (e) %15, (f) %20, (g) %25, (h) %30 IL modifiye CA-PGE ile ölçülen ortalama  $I_a$  verilerine (n=3) göre elde edilen histogramlar.

**Tablo 4.1.** Farklı IL konsantrasyonları modifiye edilen elektrotlar ile gerçekleştirilen CV ölçümü sonucunda ölçülen ortalama  $I_a$ ,  $I_c$ ,  $Q_a$ ,  $Q_c$  değerleri ve hesaplanan yüzey alanları (A).

	$I_a$ ( $\mu A$ )	$I_c$ ( $\mu A$ )	$Q_a$	$Q_c$	A ( $cm^2$ )	%
<b>PGE</b>	81,96	88,23	1,15	1,02	0,25 $cm^2$	-
<b>CA-PGE</b>	60,01	73,23	1,08	0,93	0,18 $cm^2$	-
<b>%5 IL-CA-PGE</b>	112,10	101,23	1,39	1,29	0,34 $cm^2$	36,99
<b>%10 IL-CA-PGE</b>	116,10	103,13	1,39	1,13	0,35 $cm^2$	42,28
<b>%15 IL-CA-PGE</b>	120,50	104,16	1,37	1,27	0,36 $cm^2$	47,97
<b>%20 IL-CA-PGE</b>	122,33	106,98	1,43	1,30	0,37 $cm^2$	50,00
<b>%25 IL-CA-PGE</b>	115,30	105,40	1,34	1,23	0,35 $cm^2$	41,05
<b>%30 IL-CA-PGE</b>	116,23	99,14	1,36	1,23	0,36 $cm^2$	44,31

#### 4.1.3. IL Modifikasyon Süresinin Yanıta Olan Etkisinin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesi

%20 IL modifikasyonu CA-PGE yüzeyine pasif adsorpsiyon yöntemiyle 3.4.1'deki gibi gerçekleştirildi. 3.3.8'de anlatıldığı gibi empedans ölçümü gerçekleştirildi. Elde edilen Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.3'te verildi. IL modifikasyon süresindeki değişimin elektrot yüzeyine olan etkisi incelendi.

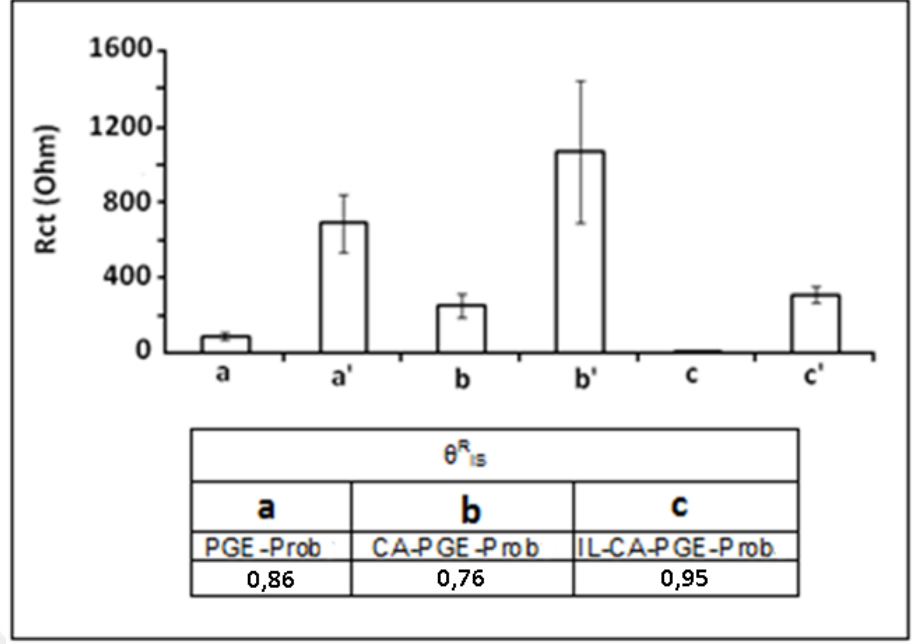


Şekil 4.3. (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) 15 dk, (d) 30 dk, (e) 60dk süreyle %20 IL modifiye edilmiş CA-PGE'ye ait (A) Nyquist diyagramları, (B) Ortalama  $R_{ct}$  değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.

#### 4.1.4. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerine miRNA-34a Prob İmmobilizasyonunun Empedimetrik Yöntemle İncelenmesi

Yöntem, 3.4.5'te anlatıldığı gibi yapıldı ve her bir elektrot için elde edilen sonuçlar Şekil 4.4'te verildi. Ayrıca hesaplanan görünen kısmi kaplama değerleri ( $\theta^{IS_R}$ ) (Janek, R.P. and Fawcett, W.R., 1998) iç şekil olarak Şekil 4.4'te verildi. Ölçüm empedimetrik olarak 3.3.8'de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi.

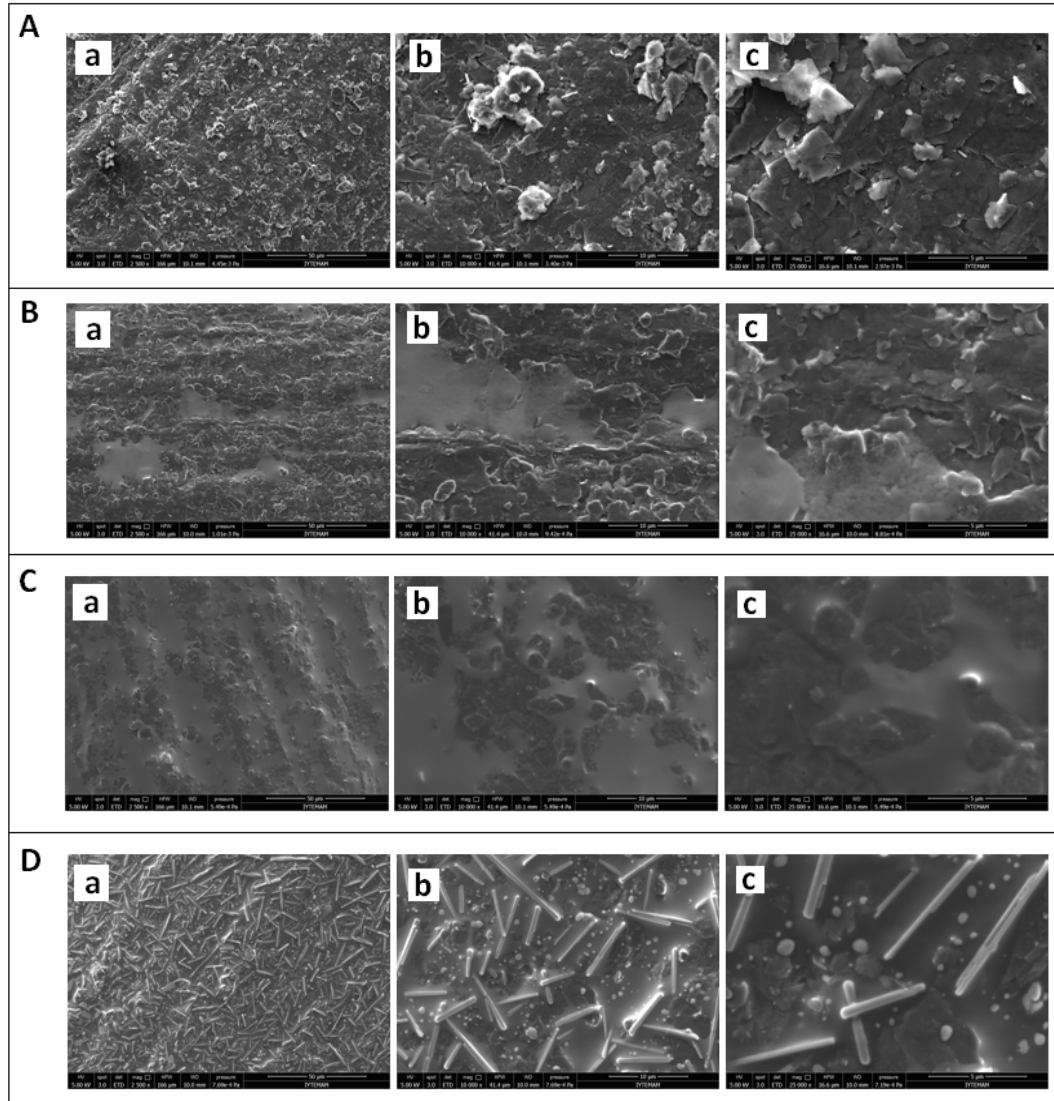




**Şekil 4.4.** (a) PGE, (a') miRNA-34a prob immobilize edilen PGE, (b) CA-PGE, (b') Prob immobilize CA-PGE, (c) IL-CA-PGE, (c') Prob immobilize IL-CA-PGE. İç şekil: (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) IL-CA-PGE'ye prob bağlanmasıyla hesaplanan  $\theta_{15}^R$  değerleri.

#### 4.1.5. PGE, CA-PGE, IL-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin SEM ile Karakterizasyonuna Yönelik Bulgular

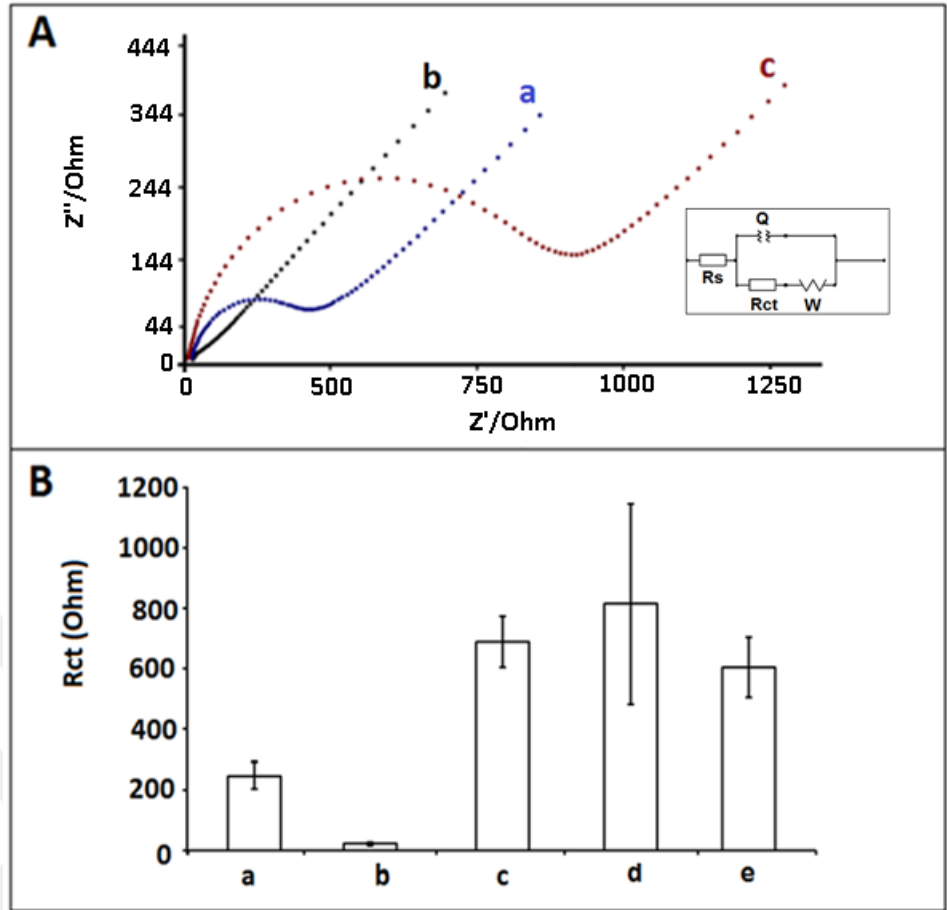
Yöntem, 3.4.6.'da anlatıldığı gibi yapıldı. PGE, CA-PGE, IL-PGE ve IL-CA-PGE yüzeylerinin farklı büyütme ölçeklerinde SEM ile karakterizasyonunda elde edilen görüntüler, Şekil 4.5'te gösterildi.



Şekil 4.5. (A) PGE, (B) CA-PGE, (C) IL-PGE, (D) IL-CA-PGE yüzeylerinin sırasıyla (a) 50  $\mu\text{m}$ , (b) 10  $\mu\text{m}$  ve (c) 5  $\mu\text{m}$  çözünürlüklerinde 5.0 kV hızlandırma potansiyeliyle elde edilen SEM görüntüleri.

#### 4.1.6. miRNA-34a Prob Dizisi Konsantrasyonundaki Değişimin Yanıtta Olan Etkisinin İncelenmesi

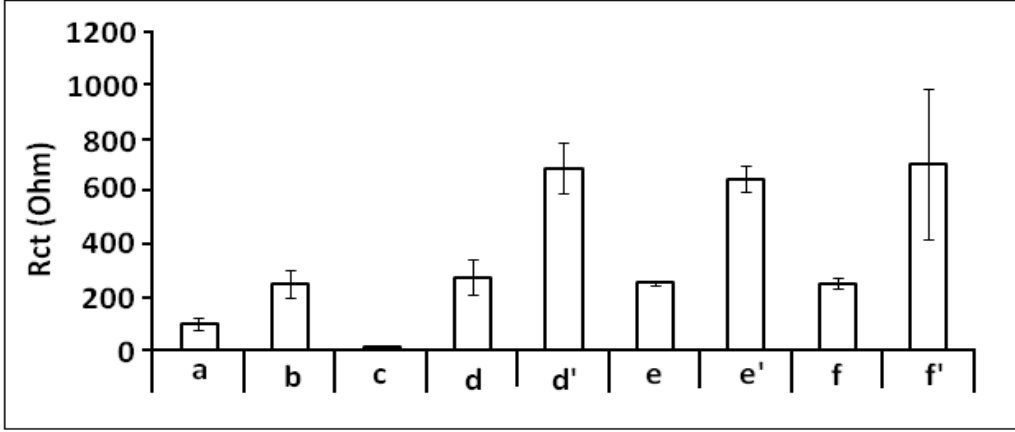
Yöntem, 3.4.7’de anlatıldığı gibi yapıldı. 0,5  $\mu\text{g/mL}$ , 1  $\mu\text{g/mL}$  ve 1,5  $\mu\text{g/mL}$  miRNA-34a prob konsantrasyonları ile elde edilen Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.6’da verildi. Empedans ölçümleri 3.3.8.’de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi.



**Şekil 4.6.** (A) (a) CA-PGE, (b) IL-CA-PGE, (c) yüzeyine 1 $\mu g/mL$  miRNA-34a prob ve 10  $\mu g/mL$  miRNA-34a hedef ile elde edilen hibrid modifiye IL-CA-PGE'ye ait Nyquist diyagramları. (B) (a) CA-PGE, (b) IL-CA-PGE, yüzeyine farklı prob konsantrasyonlarında (c) 0,5  $\mu g/mL$  (d) 1  $\mu g/mL$  (e) 1,5  $\mu g/mL$  miRNA-34a prob ve 10  $\mu g/mL$  miRNA-34a hedef ile oluşturulan hibrid modifiye IL-CA-PGE ile ölçülen ortalama  $R_{ct}$  değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.

#### 4.1.7. Hibridizasyon Süresindeki Değişimin Yanıt Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular

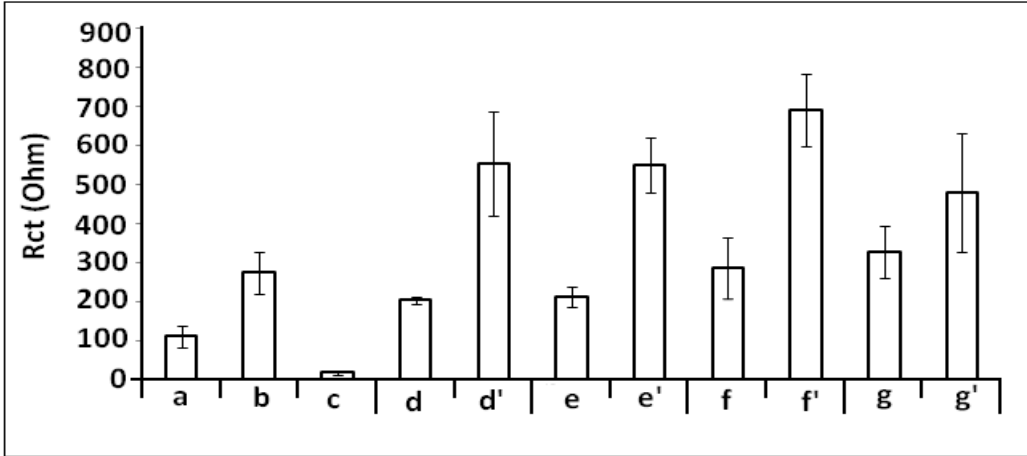
Yöntem, 3.4.8.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Prob ve hedef dizi arasındaki 5 dk, 15 dk ve 30 dk farklı hibridizasyon süreleri sonucunda oluşan hibrit yapıları ile elde edilen veriler Şekil 4.7'de gösterildi. Ölçüm empedimetrik olarak 3.3.8'de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi.



**Şekil 4.7.** (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) IL-CA-PGE, IL-CA-PGE elektrotlar kullanılarak 1 µg/mL miRNA-34 prob ile 10 µg/mL miRNA-34a arasında 5 dakika hibridizasyon ile (d) yalnız hibridizasyon, (d') hibridizasyon, 15 dakika hibridizasyon ile (e) yalnız hibridizasyon, (e') hibridizasyon, 30 dakika hibridizasyon ile (f) yalnız hibridizasyon, (f') hibridizasyon sonucunda ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.

#### 4.1.8. IL-CA-PGE Yüzeyine Hibritin Pasif Adsorpsiyon ile İmmobilizasyon Süresindeki Değişimin Yanıt Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular

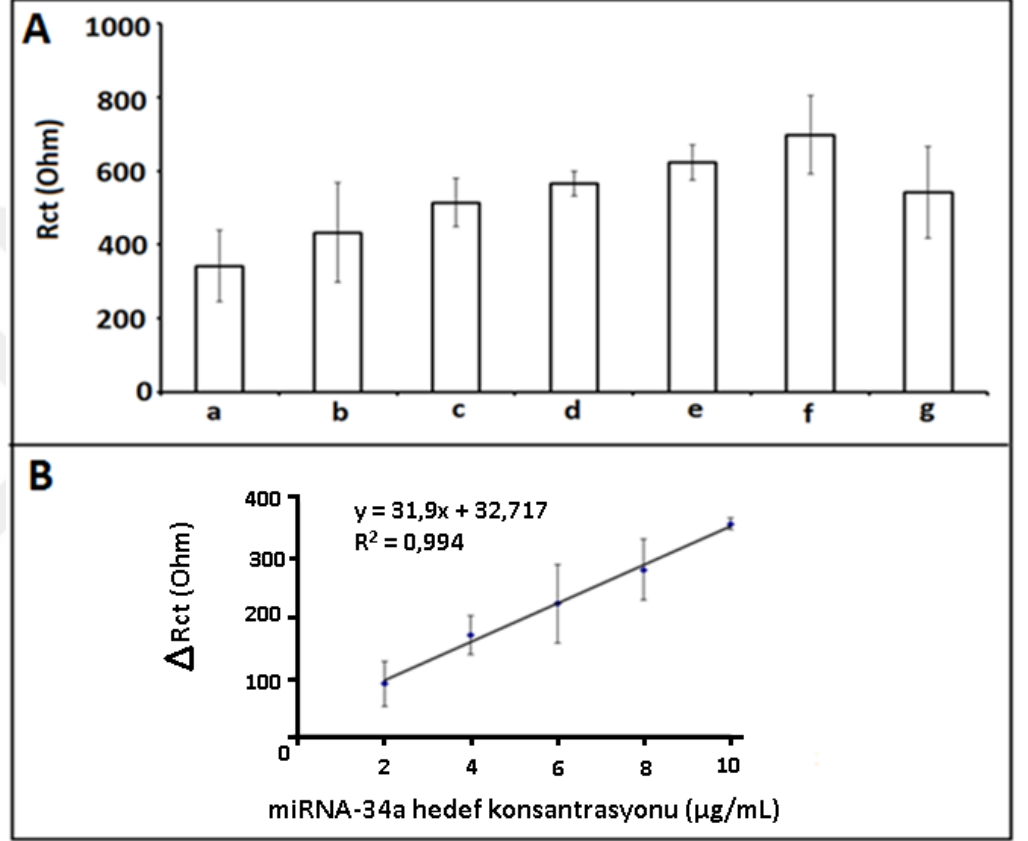
Yöntem, 3.4.9'da anlatıldığı şekilde yapıldı. 5 - 45 dk aralığında farklı pasif adsorpsiyon sürelerinde elde edilen veriler değerlendirildi ve Şekil 4.8'de verildi. Empedans ölçümleri 3.3.8'de anlatılan şekilde gerçekleştirildi.



**Şekil 4.8.** (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) IL-CA-PGE, IL-CA-PGE elektrotlar kullanılarak 1 µg/mL miRNA-34 prob ile 10 µg/mL miRNA-34a arasında oluşan hibritin 5 dk yüzeye immobilizasyonu ile (d) yalnız hibridizasyon, (d') hibridizasyon, 15 dakika yüzeye immobilizasyonu ile (e) yalnız hibridizasyon, (e') hibridizasyon, 30 dakika immobilizasyonu ile (f) yalnız hibridizasyon, (f') hibridizasyon, 45 dakika immobilizasyonu ile (g) yalnız hibridizasyon, (g') hibridizasyon sonucunda ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.

#### 4.1.9. Hedef miRNA-34a Konsantrasyonundaki Değişimin Hibridizasyon Yanıtına Olan Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular

Yöntem, 3.4.10’da anlatıldığı gibi IL-CA modifiye PGE’ler kullanılarak, PBS tamponu içerisinde hazırlanan 2-12  $\mu\text{g/mL}$  aralığında miRNA-34a hedef konsantrasyon çalışması gerçekleştirildi. Elde edilen histogram ve kalibrasyon grafiği Şekil 4.9’da verildi. Ayrıca her bir miRNA-34a hedef konsantrasyonu için hesaplanan görünen kısmi kaplama değerleri ( $\theta^{\text{IS}}_{\text{R}}$ ) Tablo 4.2’de verildi.



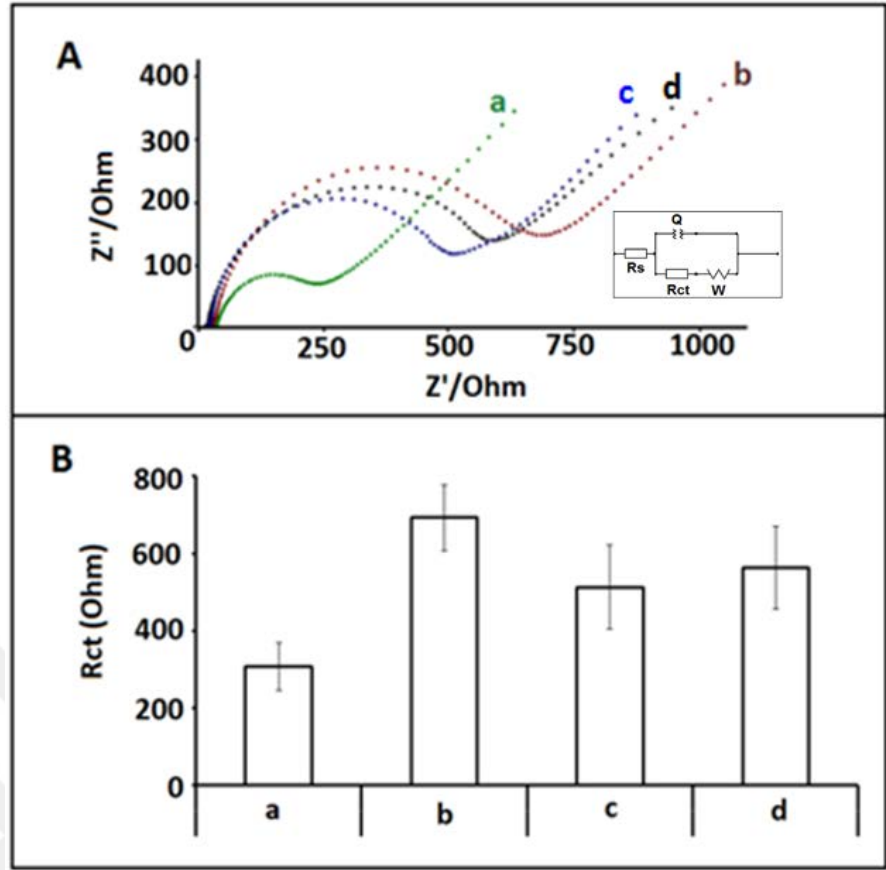
Şekil 4.9. (A) (a) 1  $\mu\text{g/mL}$  miRNA-34a prob modifiye IL-CA-PGE, prob ile (b) 2  $\mu\text{g/mL}$ , (c) 4  $\mu\text{g/mL}$ , (d) 6  $\mu\text{g/mL}$ , (e) 8  $\mu\text{g/mL}$ , (f) 10  $\mu\text{g/mL}$ , (g) 12  $\mu\text{g/mL}$  miRNA-34a hedef hibridizasyonu sonucu ölçülen ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar. (B) 2–10  $\mu\text{g/mL}$  miRNA-34a hedef konsantrasyonu aralığında elde edilen kalibrasyon grafiği.

**Tablo 4.2.** 2–12  $\mu\text{g/mL}$  miRNA-34a hedef konsantrasyonu aralığında empedimetrik yöntemle hesaplanan görünen kısmi kaplama değerleri ( $\theta^{\text{IS}}_{\text{R}}$ ).

miRNA-34a hedef konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\theta^{\text{IS}}_{\text{R}}$
2	0,823
4	0,906
6	0,928
8	0,942
10	0,955
12	0,919

#### 4.1.10. miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular

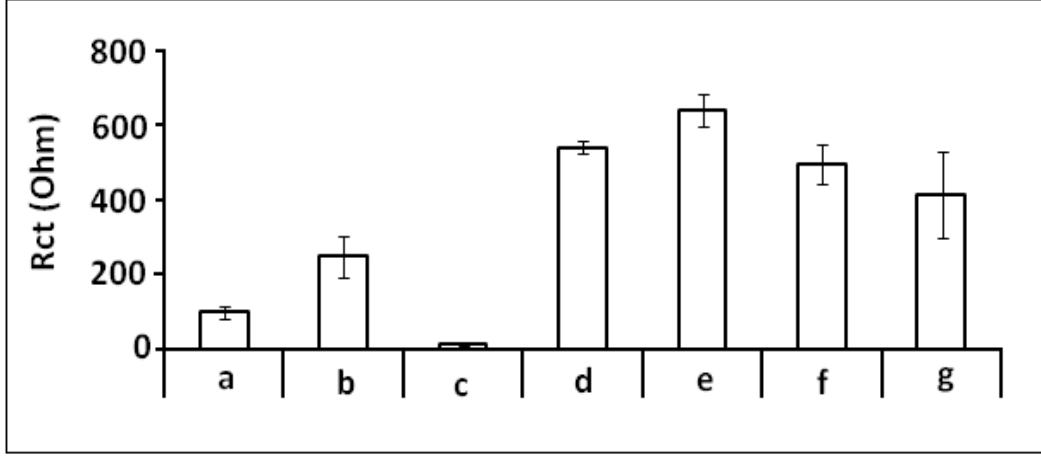
Yöntem, 3.4.10’da anlatıldığı gibi miRNA-34a hedef diziden farklı olarak miRNA-155 ve miRNA-181b rastgele (NC) dizileri kullanılarak yapıldı. Empedans ölçümleri 3.3.8’de anlatılan şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.10’da verildi.



**Şekil 4.10.** (a) 1  $\mu\text{g/mL}$  miRNA-34a prob modifiye IL-CA-PGE, 1  $\mu\text{g/mL}$  miRNA-34a DNA prob ile 10  $\mu\text{g/mL}$ , (b) miRNA-34a hedef, (c) miRNA-181b, (d) miRNA-155 hibridizasyonu sonrasında elde edilen (A) Nyquist diyagramları. (B) Ortalama  $R_{ct}$  değerlerini ( $n=3$ ) gösteren histogramlar.

#### 4.1.11. Farklı Seyreltme Oranlarında Hazırlanmış Yapay Serum Ortamının Empedimetrik Davranışının İncelenmesi

Yöntem 3.5.4'de anlatıldığı yapay serum (FBS) farklı seyreltme oranlarında PBS tamponunda seyreltildi. Empedans ölçümleri 3.3.8'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen ortalama  $R_{ct}$  değerleri ile oluşturulan histogramlar Şekil 4.11'de verildi.

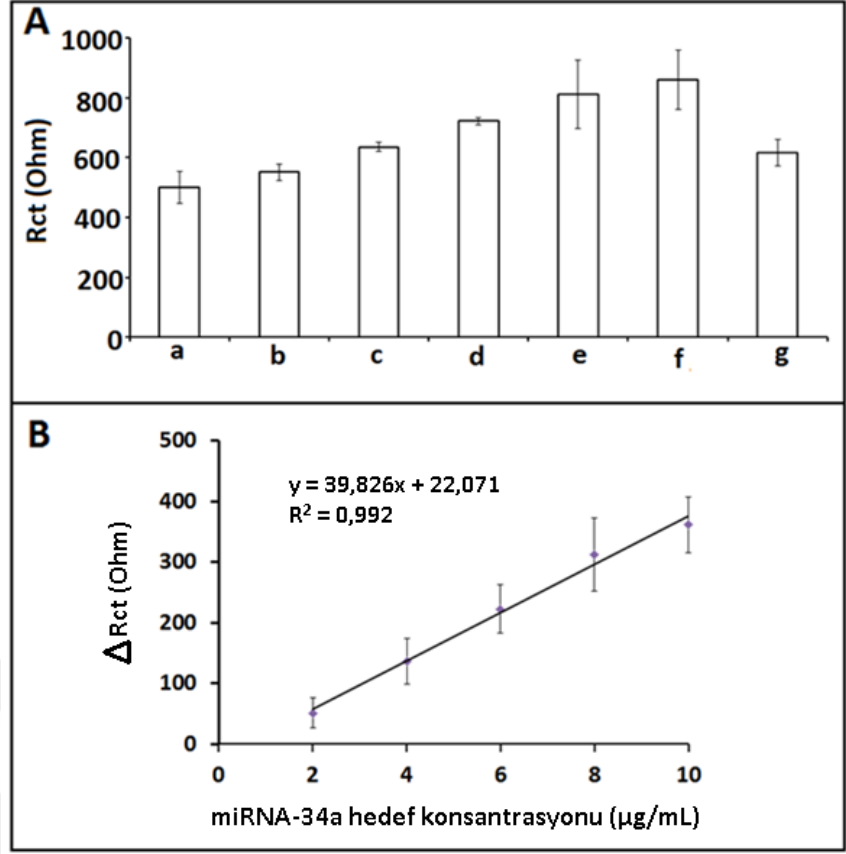


**Şekil 4.11.** (a) PGE, (b) CA-PGE, (c) IL-CA-PGE, 1 µg/mL miRNA-34a DNA prob ile (d) 1:1, (e) 1:5, (f) 1:10, (g) 1:20, oranında PBS ile seyreltilmiş FBS ortamında yalancı hibridizasyon sonrasında elde edilen ortalama Rct değerleriyle (n=3) oluşturulan histogramlar.

#### 4.1.12. Yapay Serum Ortamında Hedef miRNA-34a Konsantrasyonu Çalışmasına Yönelik Bulgular

Yöntem, 3.4.13'te anlatıldığı şekilde yapıldı. 2–12 µg/mL miRNA-34a hedef dizi konsantrasyon aralığında çalışıldı. Hedef diziler, 1:10 oranında PBS ile seyreltilmiş FBS ile hazırlandı. Yapay serum ortamında miRNA-34a tayini incelenerek IL-CA-PGE yüzeyinin uygulanabilirliği araştırıldı. Elde edilen histogramlar ve kalibrasyon garfiği Şekil 4.12'de verildi. Empedimetrik ölçüm 3.3.8.'de anlatılan şekilde gerçekleştirildi.

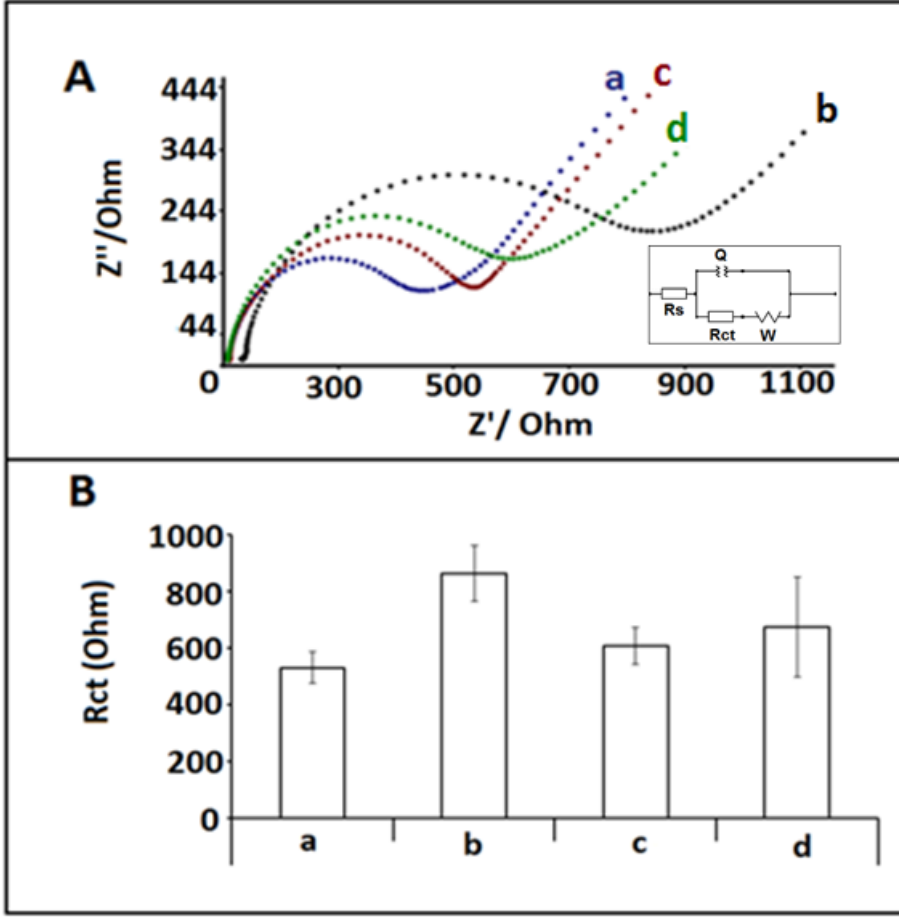




**Şekil 4.12.** (A) (a) 1 µg/mL miRNA-34a prob modifiye IL-CA-PGE, prob ile 1:10 oranında PBS ile seyreltilmiş FBS içerisinde hazırlanan (b) 2 µg/mL, (c) 4 µg/mL, (d) 6 µg/mL, (e) 8 µg/mL, (f) 10 µg/mL (g) 12 µg/mL miRNA-34a RNA hedef hibridizasyonu sonucu ölçülen ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar. (B) 1:10 oranında FBS:PBS’de hazırlanan 2–10 µg/mL miRNA-34a hedef konsantrasyonu aralığında elde edilen kalibrasyon grafiği.

#### 4.1.13. Yapay Serum Ortamında miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular

IL-CA-PGE’ler ile yapay serum ortamında seçimliliğin test edilmesi amacıyla 3.4.14.’de anlatıldığı şekilde deneyler gerçekleştirildi. miRNA-34a hedef diziden farklı olarak miRNA-155 ve miRNA-181b rastgele (NC) dizileri kullanılarak 1:10 oranında PBS ile seyreltilen FBS ortamında yapıldı. Empedans ölçümleri 3.3.8.’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.13’te verildi.

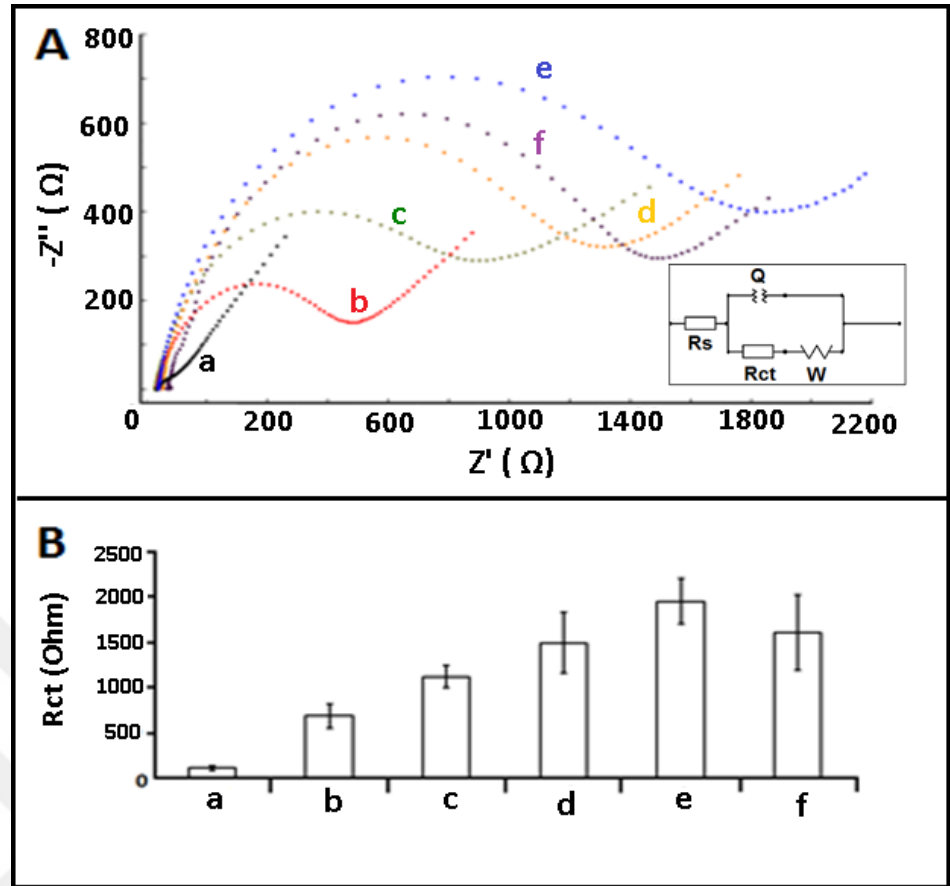


**Şekil 4.13.** (a) 1  $\mu\text{g/mL}$  miRNA-34a prob modifiye IL-CA-PGE, 1  $\mu\text{g/mL}$  miRNA-34a DNA prob ile 1:10 oranında PBS ile seyreltilmiş FBS içerisinde hazırlanan, 10  $\mu\text{g/mL}$  (b) miRNA-34a hedef, (c) miRNA-181b, (d) miRNA-155 hibridizasyonu sonrasında elde edilen (A) Nyquist diyagramları. (B) Ortalama  $R_{ct}$  değerlerini ( $n=3$ ) gösteren histogramlar.

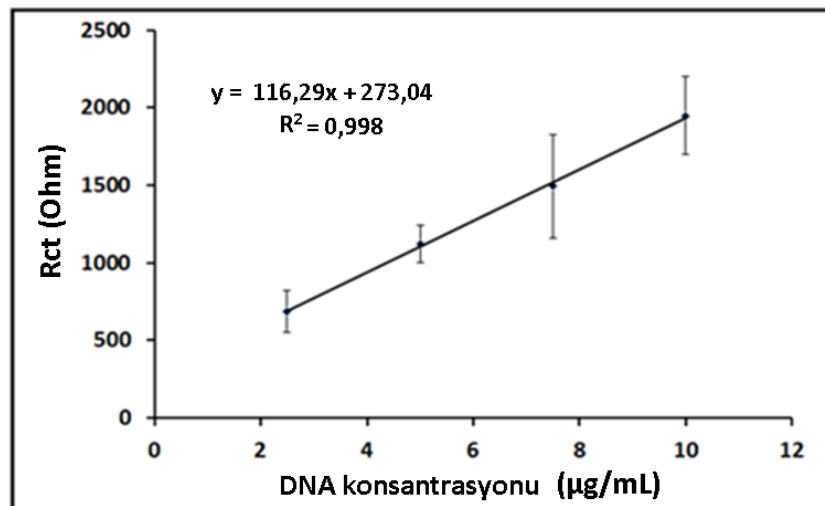
## 4.2. DNA İmmobilize Edilmiş Kalem Grafit Elektrot Yüzeyinde Fumonisin B1-DNA Etkileşiminin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesine İlişkin Bulgular

### 4.2.1. DNA Konsantrasyon Çalışmasına Yönelik Bulgular

2,5-12,5  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyon aralığında DNA immobilize edilen elektrotlar ile çalışıldı. Yöntem, 3.5.1.'de anlatıldığı şekilde ve empedans ölçümleri 3.3.8.'de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi. Elde edilen Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.14'te gösterildi. Elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.15'de verildi.



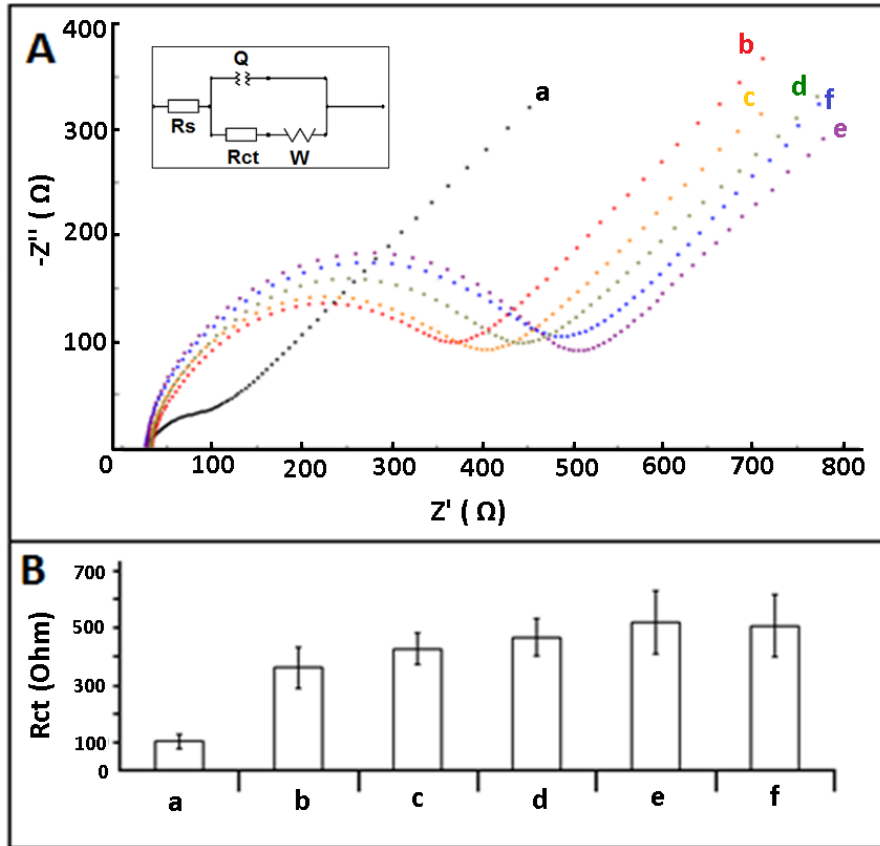
Şekil 4.14. (a) PGE, (b) 2,5 μg/mL, (c) 5 μg/mL, (d) 7,5 μg/mL, (e) 10 μg/mL, (f) 12,5 μg/mL konsantrasyonlarında DNA immobilize edilen PGE'ler ile elde edilen (A) Nyquist diyagramları, (B) Ortalama  $R_{ct}$  değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.



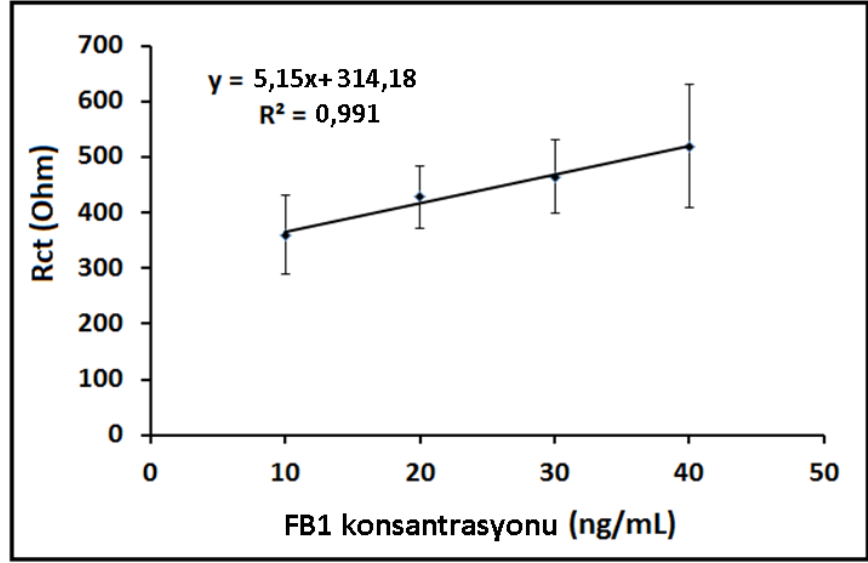
Şekil 4.15. 2,5-10 μg/mL DNA konsantrasyonu aralığında elde edilen kalibrasyon grafiği.

#### 4.2.2. Fumonisin B1 Konsantrasyon Çalışmasına Yönelik Bulgular

10-50 ng/mL konsantrasyon aralığında FB1 modifiye edilmiş elektrotlar ile çalışıldı. Yöntem, 3.5.2.'de anlatıldığı şekilde yapıldı. Empedans ölçümleri 3.3.8.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Elde edilen Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.16'da verildi. Elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.17'de verildi.



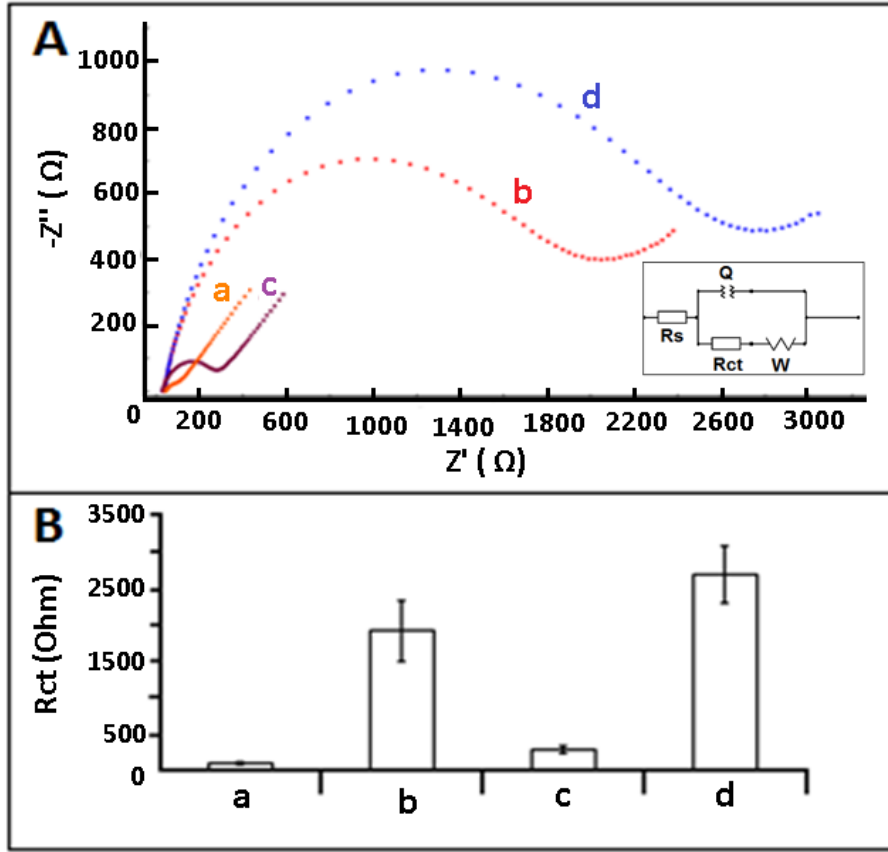
Şekil 4.16. (a) PGE, (b) 10 ng/mL (c) 20 ng/mL, (d) 30 ng/mL, (e) 40 ng/mL, (f) 50 ng/mL konsantrasyonlarında FB1 immobilize edilen PGE'ler ile elde edilen (A) Nyquist diyagramları, (B) Ortalama  $R_{ct}$  değerlerini gösteren (n=3) histogramlar.



Şekil 4.17. 10-40 ng/mL FB1 konsantrasyonu aralığında elde edilen kalibrasyon grafiği.

#### 4.2.3. PGE, DNA-PGE, FB1-PGE ve FB1-DNA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesine Yönelik Bulgular

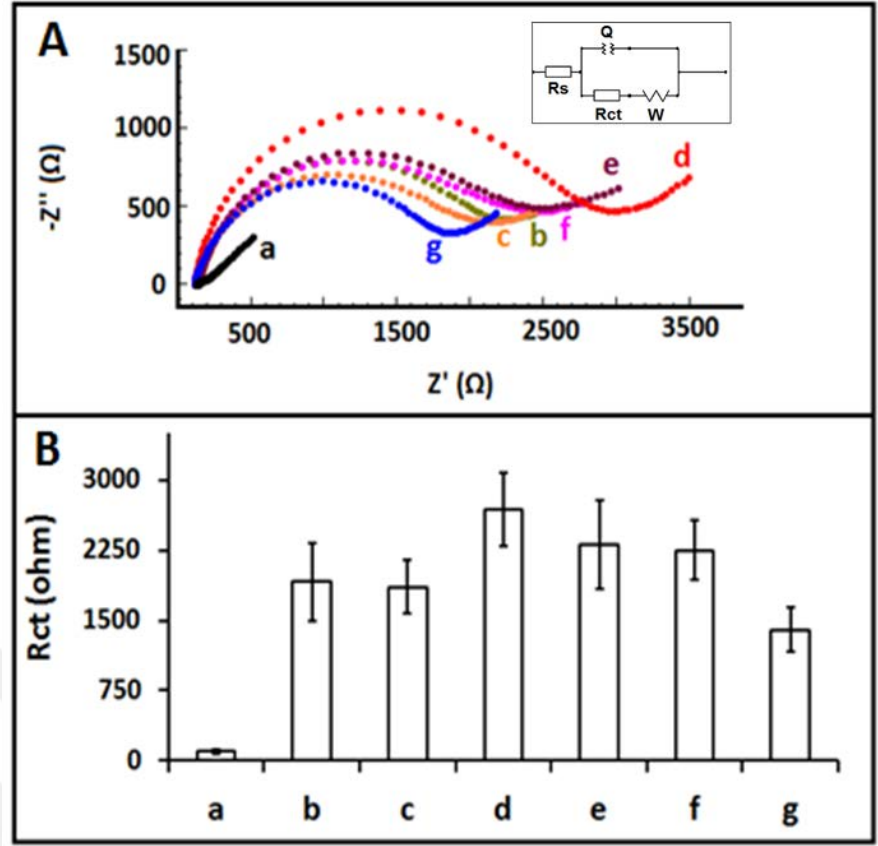
Yöntem, 3.5.5.'te anlatıldığı şekilde yapıldı. Optimum bulunan DNA ve FB1 konsantrasyonları kullanılarak PGE, DNA-PGE, FB1-PGE ve FB1-DNA-PGE ile 3.3.8.'de anlatıldığı şekilde empedans ölçümleri gerçekleştirildi. Elde edilen Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.18'de verildi.



Şekil 4.18. (a) PGE, (b) DNA-PGE, (c) FB1-PGE, (d) FB1-DNA-PGE ile elde edilen (A) Nyquist diyagramları. (B) Ortalama  $R_{ct}$  değerlerini ( $n=3$ ) gösteren histogramlar.

#### 4.2.4. Fumonisin B1-DNA Etkileşim Süresindeki Değişimin Biyosensörün Yanıtına Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular

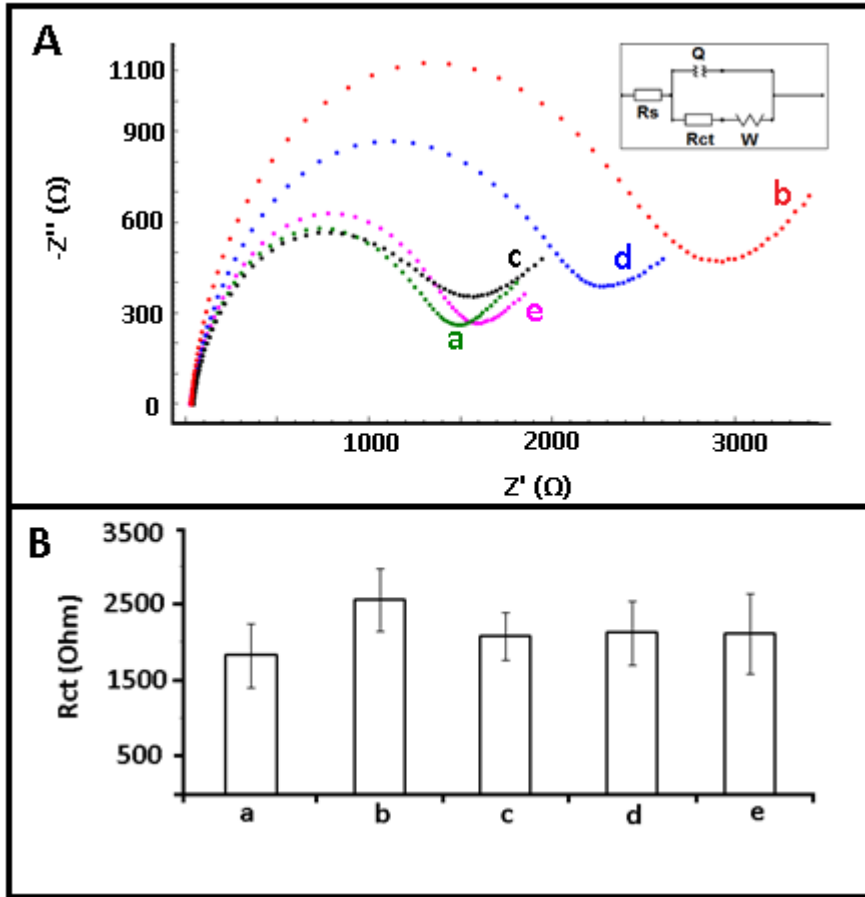
FB1 ile DNA farklı sürelerdeki etkileşimi 3.5.6.'da anlatıldığı şekilde yapıldı. DNA-PGE ile 1 - 30dk aralığında farklı sürelerde FB1 ile etkileşim incelendi. Ölçümler empedans yöntemiyle 3.3.8.'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.19'da verildi.



Şekil 4.19. (a) PGE, (b) DNA-PGE, DNA-PGE'ler ile (c) 1 dk, (d) 3 dk, (e) 5 dk, (f) 15 dk, (g) 30 dk boyunca 40 ng/mL konsantrasyonundaki FB1 ile etkileşimi sonrasında elde edilen (A) Nyquist diyagramları. (B) Ortalama Rct değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.

#### 4.2.5. Farklı Mikotoksinler Varlığında Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular

DNA-PGE'ler ile FB1 etkileşiminin seçimliliğinin test edilmesi amacıyla FB1 yanında diğer mikotoksinler olan ZEN, DON ve OTA varlığında deneyler, bölüm 3.5.7.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Empedans ölçümleri 3.3.8.'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen Nyquist diyagramları ve histogramlar Şekil 4.20'de verildi.



**Şekil 4.20.** (a) DNA modifiye PGE, (b) DNA-PGE, DNA-PGE yüzeyinde 1:1 karışım olacak şekilde 40 ng/mL (c) OTA: FB1 (1:1), (d) ZEN: FB1 (1:1), (e) DON: FB1 (1:1) elde edilen (A) Nyquist diyagramları, (B) Ortalama  $R_{ct}$  değerlerini (n=3) gösteren histogramlar.



## 5. TARTIŞMA

### 5.1. IL-CA Modifiye PGE ile miRNA-34a Tayinine Yönelik Biyosensörlerin Tasarımı ve Uygulamalarına İlişkin Bulgular ile İlgili Tartışma

#### 5.1.1. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesine Ait Bulgular ile İlgili Tartışma

Bu çalışmada, PGE, CA-PGE ve %20 IL modifiye CA-PGE'nin empedimetrik yüzey karakterizasyonunu, CA aktivasyonu ve IL modifikasyonunun PGE yüzeyine sağladığı avantajları gösterebilmek amacıyla EIS tekniği ile gerçekleştirildi (Şekil 4.1). PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE yüzeyleri için ölçülen ortalama  $R_{ct}$  değerleri sırasıyla,  $103,26 \pm 23,14$  Ohm (% RSD, % 22,41,  $n = 3$ ),  $254,00 \pm 49,56$  Ohm (% RSD, % 19,51,  $n = 3$ ) ve  $15,67 \pm 3,07$  (% RSD, % 19,58,  $n = 3$ ) olarak ölçüldü. CA-PGE yüzeyine IL modifikasyonundan sonra,  $R_{ct}$ 'de % 93,83 azalma kaydedildi (Şekil 4.1.-b, c). Meydana gelen bu azalma ile IL modifikasyonunun CA-PGE yüzeyinin iletkenliğinde bir artışa neden olduğunu göstermektedir. Literatürdeki önceki çalışmaların sonuçlarıyla benzer olarak (Sengiz et al., 2015; Eksin et al., 2013a) IL-CA-PGE yüzeyi ve redoks probu içindeki elektroaktif tür arasında meydana gelen ara yüzey elektron transferinde iletkenliğe bağlı olarak bir artış olması sebebiyle  $R_{ct}$  değerinde bir azalış gözlemlendiğine karar verildi.

#### 5.1.2. PGE, CA-PGE ve Farklı Konsantrasyonlarda IL Modifiye Edilmiş IL-CA-PGE Yüzeylerinin CV Tekniği ile Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Ait Bulgular ile İlgili Tartışma

PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE'nin elektrokimyasal yüzey karakterizasyonu CV yöntemiyle voltametrik olarak da gerçekleştirildi (Şekil 4.2). PGE, CA-PGE ve % 20 IL modifiye CA-PGE'nin ortalama anodik pik akımı ( $I_a$ ) sırasıyla,  $81,95 \pm 4,33$   $\mu$ A (% RSD, % 5,29,  $n = 3$ ),  $60,07 \pm 2,68$   $\mu$ A (% RSD, % 4,46,  $n = 3$ ) ve  $122,33 \pm 10,64$   $\mu$ A (% RSD, % 8,70,  $n = 3$ ) olarak ölçüldü. CA-PGE yüzeyine IL modifikasyonundan sonra anodik pik akımında % 103,60 artış kaydedildi (Şekil 4.2. b–d). PGE ve CA-PGE ile ölçülen sinyallere kıyasla IL modifiye yüzeyde ölçülen akım değeri  $I_a$ 'da bir artış gözlemlenmişti; bunun sebebi, IL, elektron transferini hızlandırıp arttırması nedeniyle sinyalin artışı şeklinde açıklanabilir.

IL konsantrasyonunun ortalama anodik pik akımı ( $I_a$ ) üzerindeki etkisini görmek için % 5, % 10, % 15, % 20, % 25 ve % 30 olmak üzere çeşitli IL konsantrasyonlarında CV ölçümü gerçekleştirildi. Farklı konsantrasyonlarda IL modifiye edilmiş elektrotlarda CV ölçümleri sonrasında elde edilen devreden geçen yük miktarı;  $Q$  (C), anodik pik akımı ( $I_a$ ), katodik pik akımı ( $I_c$ ) ve her bir elektrot için hesaplanan yüzey alanı ( $A$ ) değerleri Tablo 4.1'de gösterildi. % 5, % 10, % 15, % 20, % 25 ve % 30'luk IL ile anodik pik akımları ( $I_a$ ) sırasıyla,  $112,10 \pm 4,60 \mu A$  (% RSD, % 4,11,  $n = 3$ ),  $116,10 \pm 4,45 \mu A$ , (% RSD, % 3,83,  $n = 3$ ),  $120,500 \pm 7,60 \mu A$  (% RSD, % 6,73,  $n = 3$ ),  $122,33 \pm 10,64 \mu A$  (% RSD, % 8,70,  $n = 3$ ),  $115,10 \pm 7,00 \mu A$  (% RSD, % 6,07,  $n = 3$ ) ve  $116,23 \pm 5,37 \mu A$  (% RSD) % 4,62,  $n = 3$ ) olarak ölçüldü. Anodik pik akımındaki en fazla artış % 20 IL konsantrasyonunda gözlemlendi. Ayrıca, CA-PGE yüzeyine kıyasla % 20 IL modifiye elektrot yüzeyinde % 50'lik bir artış söz konusudur ve % 20 IL modifiye elektrodun yüzey alanı  $0,38 \text{ cm}^2$  olarak hesaplandı. Bu nedenle % 20 IL konsantrasyonunun optimum olduğuna karar verildi.

### **5.1.3. IL Modifikasyon Süresindeki Değişimin Yanıtı Olan Etkisinin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesine Ait Bulgular İle İlgili Tartışma**

CA-PGE yüzeyine IL immobilizasyon süresindeki değişimin, EIS tekniğiyle optimize edildi (Şekil 4.3). Modifiye edilmemiş PGE, CA-PGE, 15, 30 ve 60 dakika IL modifiye edilen CA-PGE'ye ait ölçülen ortalama  $R_{ct}$  değerleri sırasıyla,  $103,94 \pm 22,44 \text{ Ohm}$  (% RSD, %21,59,  $n = 3$ ),  $251,06 \pm 45,51 \text{ Ohm}$  (%RSD, %18,3,  $n = 3$ ),  $19,67 \pm 4,04 \text{ Ohm}$  (% RSD, %20,55,  $n = 3$ ),  $19,79 \pm 6,20$  (% RSD, %31,32,  $n = 3$ ) ve  $21,00 \pm 8,19$  (% RSD, %38,98,  $n = 3$ ) olarak hesaplandı.

IL'in yüzeye 15 dakika pasif adsorpsiyonu sonucunda Rct değerindeki en fazla azalış elde edildi. Bu sürede, ölçülen Rct değerlerinde tekrarlanabilirliğin diğer sürelerle kıyasla daha iyi olması sebebiyle (bağıl standart sapma % 20,55 (n=3)) 15 dakika IL immobilizasyon süresi optimum olarak seçildi. Ayrıca, bir biyosensör tasarlanırken hızlı yanıt alabilmek oldukça önemli bir parametredir. Elektrot hazırlığı ve modifikasyon süreleri düşünüldüğünde tayinin gerçekleştirilebilmesi için geçen toplam sürenin kısa olabilmesi avantajdır. 15 dakika immobilizasyon süresi seçilerek toplam analiz süresinin de daha kısa tutabileceği düşünüldü. Bundan sonraki deneylerde, 15 dakika immobilizasyon süresi kullanıldı.

#### **5.1.4. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerine miRNA-34a Prob Immobilizasyonunun Empedimetrik Yöntemle İncelenmesine Ait Bulgular İle İlgili Tartışma**

IL-CA-PGE yüzeyinin, modifiye edilmemiş PGE ve CA ile aktive edilmiş PGE'ye göre avantajının gösterilmesi amacıyla, miRNA-34a probun hangi yüzeye daha iyi bağlanacağı EIS tekniği ile gösterildi. PGE, CA-PGE ve IL-CA-PGE'ye miRNA-34a prob immobilize edildikten sonra ortalama Rct değerleri sırasıyla,  $691,33 \pm 153,11$  Ohm (% RSD, %22,15, n = 3),  $1070,00 \pm 378,42$  Ohm (%RSD, %35,37, n = 3) ve  $314,00 \pm 43,65$  Ohm (% RSD, %13,90, n = 3) olarak ölçüldü. Rct değerlerine bakıldığında, PGE'ye göre prob-PGE'de 7,23 kat artış, CA-PGE'ye göre prob-CA-PGE'de 4,19 kat artış ve IL-CA-PGE'ye göre prob-IL-CA-PGE'de 19,52 kat artış görüldü. En fazla artış IL-CA-PGE yüzeyinde prob immobilize edildiğinde gözlemlendi. IL-CA-PGE yüzeyi ile ölçülen Rct değerlerine bakıldığında, diğer yüzeylere kıyasla daha iyi tekrarlanabilirlik (bağıl standart sapma % 13,90 (n=3)) elde edildiği tespit edildi. Ayrıca her bir elektrot yüzeyi için görünen kısmi kaplama değeri ( $\theta_{IS_R}^{IS}$ ) (Janek, R.P. and Fawcett, W.R., 1998) Denklem 1' e göre hesaplandı ve Şekil 4.4 içerisindeki Tablo'da gösterildi.

$$\theta_{IS_R}^{IS} = 1 - [R_{ct}(\text{bare electrode})/R_{ct}(\text{modified electrode})] \quad \text{Denklem (1)}$$

Yüzeyin iyi bir şekilde kaplandığını belirlemede  $\theta_{IS_R}^{IS}$  değerinin 0,9'dan yüksek olması beklenmektedir (Erdem, A. and Congur G., 2013). En yüksek  $\theta_{IS_R}^{IS}$  değeri (0,95) IL-CA-PGE yüzeyine 1 µg/mL prob immobilizasyonu sonucu elde edildi.

### 5.1.5. PGE, CA-PGE, IL-PGE ve IL-CA-PGE Yüzeylerinin SEM ile Karakterizasyonuna Yönelik Tartışma

PGE, CA-PGE, IL-PGE ve IL-CA-PGE'lerin yüzeyleri optimum koşullar altında SEM ile mikroskobik olarak incelenildi. SEM ile karakterizasyonda elde edilen görüntüler, Şekil 4.5'de gösterildi. 50 µm'den 5 µm'ye kadar değişen çözünürlük aralığında elde edilen görüntüler incelendiğinde, PGE yüzeyinin (Şekil 4.5-A) CA ile aktivasyonundan PGE'ye göre daha parlak bir yüzey gözlemlendi (Şekil 4.5-B). PGE yüzeyine (Şekil 4.5-A) IL modifikasyonundan sonra daha pürüzsüz bir yüzey elde edildiği gözlemlendi (Şekil 4.5-C). CA-PGE'nin yüzeyine IL modifikasyonundan sonra (Şekil 4.5-D) CA-PGE (Şekil 4.5-B) ve IL-PGE (Şekil 4.5-C) yüzeylerine kıyasla daha homojen kaplanmış bir yüzey gözlemlendi.

### 5.1.6. miRNA-34a Prob Dizisi Konsantrasyonundaki Değişimin Yanıt Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular İle İlgili Tartışma

miRNA-34a DNA probu konsantrasyonunu optimize etmek için, farklı miRNA-34a DNA probu konsantrasyonları ve 10 µg / mL miRNA-34a hedefinin varlığında hibridizasyon gerçekleştirildi. 0,5 µg/mL, 1,0 µg/mL ve 1,5 µg/mL miRNA-34a probunun yalancı hibridizasyonundan sonra ortalama Rct değerleri sırasıyla,  $227,50 \pm 4,95$  Ohm (% RSD = %2,18, n=3),  $238,67 \pm 24,91$  Ohm (% RSD = %10,44, n=3) ve  $344,50 \pm 45,96$  Ohm (% RSD = %13,34, n=3) olarak ölçüldü. Hibridizasyondan sonra ise ortalama Rct değerleri sırasıyla,  $689,17 \pm 83,44$  Ohm (% RSD = %12,11, n=3),  $815,00 \pm 331,31$  Ohm (% RSD = %30,42, n=3) ve  $604,50 \pm 101,12$  Ohm (% RSD = %16,73, n=3) olarak ölçüldü (Şekil 4.6).

1 µg/mL miRNA-34a probu ve miRNA-34a hedef arasında hibridizasyon durumunda, Rct değeri, yalancı hibridizasyonda elde edilene kıyasla 2,88 kat daha yüksek bulundu. Rct değerindeki bu artış, DNA:miRNA hibridizasyonundan sonra elektrot yüzeyindeki artan negativite ile açıklandı. Ayrıca, en yüksek Rct değeri miRNA-34a hedef ile 1 µg/mL miRNA-34a probunun hibridizasyonu sonrasında gözlemlendi. Dolayısıyla, optimum prob konsantrasyonu 1 µg/mL olarak seçildi.

### 5.1.7. Hibridizasyon Süresindeki Değişimin Yanıta Olan Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular İle İlgili Tartışma

1 µg/mL miRNA-34a DNA probu ve 10 µg/mL miRNA34-a hedef arasındaki hibridizasyon, 5, 15, 30 dakika olmak üzere çeşitli hibridizasyon süreleri için incelendi (Şekil 4.7). 1 µg/mL miRNA-34a probunun 5 dakikalık yalancı hibridizasyonundan sonra, ortalama Rct değeri  $277,71 \pm 66,42$  Ohm (RSD% = 23,92%, n = 3) olarak ölçüldü. 1 µg/mL miRNA-34a probu ve 10 µg/mL miRNA-34a hedefi arasındaki hibridizasyondan sonra, ortalama Rct değeri  $689,40 \pm 95,95$  Ohm (% RSD = % 13,92, n=3) olarak ölçüldü. Diğer hibridizasyon sürelerine kıyasla, 5 dakikalık hibridizasyon sonrasında proba kıyasla Rct değerinde en fazla artış (2,5 kat) elde edildiğinden dolayı 5 dakika hibridizasyon süresi optimum olarak seçildi.

### 5.1.8. IL-CA-PGE Yüzeyine Hibritin Pasif Adsorpsiyon ile İmmobilizasyon Süresindeki Değişimin Yanıta Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

miRNA-34a DNA probu miRNA34-a hedef arasında optimum koşullarda oluşturulan hibritin IL-CA-PGE yüzeyine immobilize edilmesinde optimum sürenin bulunması hedeflendi. Hibrit, 15, 30, 45 ve 60 dakika olmak üzere çeşitli pasif adsorpsiyon sürelerinde yüzeye immobilize edildi. (Şekil 4.8). 1 µg/mL miRNA-34a probu ve 10 µg/mL miRNA-34a hedefinin yalancı hibridizasyonu sonrasında pasif adsorpsiyon ile yüzeye 30 dakika immobilizasyonundan sonra, ortalama Rct değeri,  $287,00 \pm 78,02$  Ohm (% RSD = % 27,19, n=3) olarak ölçüldü. Aynı koşullarda hibridizasyon ile Rct değeri,  $691,80 \pm 93,01$  Ohm (% RSD = % 13,44, n = 3) olarak ölçüldü. 30 dakika immobilizasyon süresinde, hibridizasyon varlığında ölçülen Rct değeri, yalancı hibridizasyon varlığında ölçülen Rct değerine kıyasla daha yüksek (2,5 kat artış) ve daha tekrarlanabilir olması (% RSD = % 13,44 (n=3)) nedeniyle, bundan sonraki çalışmalar için 30 dakika pasif adsorpsiyon süresi optimum olarak seçildi.

### 5.1.9. Hedef miRNA-34a Konsantrasyonundaki Değişimin Hibridizasyon Yanıtına Olan Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

Farklı miRNA-34a hedef konsantrasyonlarında IL-CA-PGE yüzeyinde gerçekleşen hibridizasyona ait ölçülen Rct değerlerini gösteren histogram ve kalibrasyon eğrisi, şekil 4.9'da gösterildi. 1 µg/mL miRNA-34a DNA probunun 5 dakikalık yalancı hibridizasyonundan sonra ortalama Rct değeri  $342.27 \pm 97.28$  Ohm (% RSD = % 28.42, n = 3) olarak ölçüldü. Daha sonra, Rct değerleri, 1 µg/mL miRNA-34a probu ve 2 - 12 µg/mL aralığında hedefin hibridizasyonu sonrasında ölçülen ortalama Rct değerleri sırasıyla,  $433,00 \pm 134,54$  Ohm (% RSD = % 31,07, n=3),  $513,50 \pm 65,76$  Ohm (% RSD = % 12,81, n=3),  $565,67 \pm 32,58$  Ohm (% RSD = % 5,76, n=3),  $622,00 \pm 47,48$  Ohm (% RSD = % 7,63, n=3),  $697,75 \pm 106,30$  Ohm (% RSD = % 15,23, n=3) ve  $542,00 \pm 123,04$  Ohm (% RSD = % 22,70, n=3) olarak ölçüldü. 2-10 µg/mL hedef konsantrasyonları arasında ve 5 dakika hibridizasyon süresi sonrasında ölçülen Rct değerlerinde kademeli olarak bir artış elde edildi (Şekil 4.9b-f). Yüzeye hibritin bağlanması ile elektrot yüzeyi ile redoks probundaki elektroaktif türler arasındaki itmeden dolayı Rct'de artış gözlemlendi. Hedef dizi konsantrasyonu 10 µg/mL'den daha yüksek bir konsantrasyona arttırıldığı zaman, prob ile hedef arasında verimli bir şekilde hibridizasyonun gerçekleşmediği ve bu yüzden Rct değerinde azalış elde edildiğinde karar verildi (Şekil 4.9g). Bu azalışın sebebi, ortamdaki miRNA-34a hedef dizinin fazla miktarı, prob ile hibridizasyon sırasında oluşan çift sarmalın yanlış katlanmasına neden olması ve buna bağlı olarak redoks probu iyonlarının elektrot yüzeyine ulaşmalarının zorlaşması şeklinde açıklanabilir (Caliskan et al., 2009a; Dharuman et al., 2005).

Hibridizasyonda her bir miRNA-34a hedef konsantrasyonu için görünen kısmi kaplama değeri ( $\theta_{IS_R}^{IS}$ ) (Janek et al. 1998) değerleri Denklem 1' e göre hesaplandı ve Tablo 4.2'de gösterildi. En yüksek  $\theta_{IS_R}^{IS}$  değeri 0,955 olarak, IL-CA-PGE yüzeyine 1 µg/mL prob ile 10 µg/mL hedef arasında oluşan hibritin immobilize edilmesi sonucu elde edildiğinden, 10 µg/mL hedef konsantrasyonu ile hibridizasyonunda, oluşan hibritle elektrot yüzeyinin daha iyi kaplandığı sonucuna varıldı.

Miller ve Miller (2005) tarafından tanımlanan yöntemle göre, 2 - 10 µg/mL doğrusal miRNA-34a konsantrasyon aralığında hesaplanan  $\Delta R_{ct}$  ( $\Delta R_{ct} = R_{ct}(\text{hibridizasyon}) - R_{ct}(\text{yalancı hibridizasyon})$ ) değerlerine göre, Şekil 4.9'da verilen kalibrasyon eğrisinden ( $y = 31,9x + 32,717$  ve  $R^2 = 0,9916$ ) % 99 güvenilirlikte tayin sınırı, 0,772 µg/mL (40 µL'sinde 4,36 pM) olarak bulundu. 1 µg/mL miRNA-34a prob ile 10 µg/mL miRNA-34a hedefin hibridizasyonu varlığında en yüksek  $R_{ct}$  değeri elde edildiğinden, seçimlilik çalışmaları için 10 µg/mL miRNA-34a konsantrasyonu optimum olarak seçildi.

**Tablo 5.1.** Elektrokimyasal miRNA analizine yönelik bazı güncel çalışmaların tez çalışması ile kıyaslanması.

Elektrot	miRNA	Yöntem	Tayin sınırı	Kaynaklar
GO/CA/PGE	miRNA-34a	EIS	82,36 nM	(Erdem et al., 2017)
CNFs/SPE	miRNA-34a	DPV, EIS	3,12 µM	(Erdem et al., 2015)
AuNP/AuE	miRNA let-7d	EIS, CV, SWV,	0,17 pM	(Tao et al., 2017)
MWCNT/ GCE	miRNA-155	CV, DPV	1,64 fM	(Cai et al., 2017)
Spesifik biyotinleşmiş DNA/LNA/MB/ AuNP/GCE	miRNA-21	EIS	0,3 pM	(Azzouzi et al., 2017)
AuNP/MoS <sub>2</sub> /GCE	miRNA-21	CV, DPV, EIS	0,086 fM	(Shuai et al., 2017)
PPy/PGE	miRNA-34a	EIS	0,20 µg/mL	(Mandli et al., 2018)
GO/CA/PGE	miRNA-34a	DPV	1,07 µM	(Isin et al., 2017)
IL/CA/PGE	miRNA-34a	EIS	0,772 µg/mL (0,109 µM)	Tez çalışması

Tablo 5.1’de özetlenen literatürdeki elektrokimyasal miRNA analizi için rapor edilen bazı çalışmalar (Isin et al., 2017; Erdem et al., 2015) ile çalışmamız kıyaslandığında, tayin sınırının daha düşük olduğu saptandı. Ayrıca çalışmamız diğer biyosensör sistemleri ile kıyaslandığında geliştirdiğimiz biyosensör sisteminin AuNP modifiye elektrotlar (Tao et al., 2017; Azzouzi et al., 2017; Shuai et al., 2017), nanomalzeme modifiye elektrotlar (Shuai et al., 2017; Erdem et al., 2017.; Cai et al., 2017), polimer modifiye elektrotlar (Mandli and Amine, 2018) ve bazı optik biyosensör sistemleri (Vaisocherová et al., 2015) kullanılarak yapılan daha önceki çalışmaların aksine oldukça düşük maliyetli ve hızlı bir analize imkan sağladığı tespit edildi.

#### **5.1.10. miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma**

Empedimetrik miRNA-34a biyosensörünün seçimliliği, miRNA-155 ve miRNA-181b olmak üzere farklı miRNA dizilerine karşı test edildi. miRNA-34a DNA probu ve miRNA-34a hedefi, miRNA-181, miRNA-155 arasındaki hibridizasyon sonrasında ortalama  $R_{ct}$  değerleri sırasıyla,  $692,71 \pm 85,77$  Ohm (% RSD, % 12,38, n = 3),  $512,67 \pm 109,50$  Ohm (% RSD, % 21,27, n = 3),  $563,20 \pm 107,44$  Ohm (% RSD, % 19,08, n = 3) olarak ölçüldü (Şekil 4.10). En yüksek ve tekrarlanabilir  $R_{ct}$  değeri miRNA-34a spesifik probu ve tamamlayıcı miRNA-34a RNA hedefi arasındaki hibridizasyondan sonra elde edildi.

#### **5.1.11. Farklı Seyreltme Oranlarında Hazırlanmış Yapay Serum Ortamının Empedimetrik Davranışının İncelenmesine Yönelik Tartışma**

Yapay serum ortamı (FBS) farklı oranlarda (1: 1, 1:5, 1:10 ve 1:20) PBS ile seyreltildi. miRNA-34a’yı yapay serum içerisinde tayin ederken, diğer türlerin girişiminin en az olduğu 1:10 oranında seyreltilmiş FBS ortamı seçildi (Şekil 4.11).



### 5.1.12. Yapay Serum Ortamında Hedef miRNA-34a Konsantrasyonu Çalışmasına Yönelik Bulgular İle İlgili Tartışma

miRNA-34a DNA probu ve miRNA-34a RNA hedefi arasındaki hibridizasyon, 2 - 12 µg/mL arasında değişen farklı miRNA-34a hedef konsantrasyonlarının varlığında FBS ortamında gerçekleştirildi. Rct değerinde, 10 µg/mL miRNA-34a konsantrasyonuna (Şekil 4.12f) kadar artış gözlemlendi. 12 µg/mL miRNA-34a konsantrasyonunda ise Rct değerinde azalış gözlemlendi (Şekil 4.12g).

Miller ve Miller (2005) tarafından tanımlanan yöntemle göre, 2 - 10 µg/mL doğrusal miRNA-34a konsantrasyon aralığında hesaplanan  $\Delta Rct$  ( $\Delta Rct = Rct(\text{hibridizasyon}) - Rct(\text{yalancı hibridizasyon})$ ) değerlerine göre, Şekil 4.12'deki kalibrasyon eğrisinden ( $y = 39,826x + 22,071$  ve  $R^2 = 0,9920$ ) % 99 güvenilirlikte tayin sınırı, 0,826 µg/mL (40 µL'sinde 4,68 pM) olarak bulundu. Yapay serum ortamında duyarlı bir şekilde miRNA-34a tayini gerçekleştirildi.

### 5.1.13. Yapay Serum Ortamında miRNA-34a Hibridizasyonunda Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

Empedimetrik biyosensörün seçimliliği, 1:10 oranında seyreltilmiş FBS: PBS varlığında miRNA 155 ve miRNA 181b'ye karşı test edildi. miRNA-34a prob ile miRNA-34a hedef, miRNA-181b, miRNA-155 ile yapay serum ortamında hibridizasyon sonrasında ortalama Rct değerleri sırasıyla,  $861,43 \pm 98,60$  Ohm (% RSD, % 11,45, n=3),  $605,97 \pm 65,36$  Ohm (% RSD, % 10,79, n=3),  $673,25 \pm 174,34$  Ohm (% RSD, % 25,90, n=3) olarak ölçüldü (Şekil 4.13). miRNA-34a hedef ile hibridizasyon sonrasında proba göre Rct değerinde % 64,2 artış gözlenirken, miRNA-181b ve miRNA-155 ile proba göre sırasıyla % 14,20 ve % 27,91 artış gözlemlendi. Sonuç olarak yapay serum ortamında, miRNA-34a seçimli ve duyarlı bir şekilde tayin edildi.

## 5.2. DNA İmmobilize Edilmiş Kalem Grafit Elektrot Yüzeyinde Fumonisin B1- DNA Etkileşiminin Empedimetrik Yöntemle İncelenmesine İlişkin Tartışma

### 5.2.1. DNA Konsantrasyon Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

PGE yüzeyi için en uygun DNA konsantrasyonunun belirlenmesi amaçlandı. Farklı konsantrasyonlarda DNA immobilize edilmiş elektrotlar ile EIS tekniği kullanılarak Rct değerleri ölçüldü. PGE, yüzeyine 2,5, 5, 7,5, 10 ve 12,5 µg/mL DNA modifiye edildikten sonra ölçülen Rct değerleri sırasıyla, 110,56 ± 23,53 Ohm (% RSD, % 21,29, n = 3), 686,67 ± 133,82 Ohm (% RSD, % 19,49, n = 3), 1121,40 ± 121,06 Ohm (% RSD, % 10,86, n = 3), 1492,57 ± 336,33 Ohm (% RSD, % 22,53, n = 3), 1948,67 ± 250,65 Ohm (% RSD, % 12,86, n = 3) ve 1606,50 ± 491,31 Ohm (% RSD, % 26,10, n = 3) olarak hesaplandı.

DNA immobilizasyonu sonrası Rct değerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.14). Elektrot yüzeyinin DNA ile kaplanmasından sonra Rct değerinde meydana gelen artışın nedeni, DNA'da bulunan negatif yüklü fosfat grupları ile anyonik redoks probu arasındaki itme kuvvetinin artması sonucu direncin artmasıdır (Erdem, and Congur, 2013). 2,5 – 10 µg/mL DNA konsantrasyon aralığında Rct değerindeki en fazla artış, iyi bir tekrarlanabilirlik ile PGE yüzeyine 10 µg/mL DNA immobilizasyonu sonrasında gözlemlendiği için, optimum DNA konsantrasyonu 10 µg/mL olarak seçildi. 12,5 µg/mL' de ise Rct değerinde azalış saptandı.

Miller ve Miller (2005) tarafından tanımlanan yönteme göre, 2,5 - 10 µg/mL doğrusal DNA konsantrasyonu aralığında, Şekil 4.15'deki kalibrasyon eğrisinden ( $y = 166,29x + 273,04$  ve  $R^2 = 0,998$ ) % 99 güvenilirlikte tayin sınırı, 0,105 µg/mL olarak hesaplandı.

### 5.2.2. Fumonisin B1 Konsantrasyon Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

Farklı konsantrasyonlarda FB1 immobilize edilen PGE'ler ile EIS tekniği kullanılarak ölçümler alındı (Şekil 4.16). 10, 20, 30, 40 ve 50 ng/mL FB1 modifiye PGE'ler ile Rct değerleri sırasıyla, 359,80 ± 71,43 Ohm (% RSD, % 19,85, n = 3), 425,75 ± 55,13 Ohm (% RSD, % 12,95, n = 3), 465,00 ± 65,32

Ohm (% RSD, % 14,05, n = 3),  $519,00 \pm 110,62$  Ohm (% RSD, % 21,31, n=3) ve  $505,80 \pm 109,46$  Ohm (RSD%, % 21,64, n=3) olarak ölçüldü.

Rct değerinin 10-40 ng/mL FB1 konsantrasyon aralığında arttığı, 50 ng/mL FB1 konsantrasyonunda ise azaldığı tespit edildi (Şekil 4.16) FB1'in yapısında bulunan karboksil gruplarına bağlı olarak elektrot yüzeyindeki negativitenin arttığı; dolayısıyla anyonik redoks probu ile elektrot yüzeyi arasındaki itme kuvvetinin artmasına bağlı olarak dirençte artış gözlemlendiği sonucuna varıldı. Buna göre, optimum FB1 konsantrasyonu 40 ng/mL olarak seçildi.

Miller ve Miller (2005) tarafından tanımlanan yöntemle göre, Şekil 4.17'de verilen kalibrasyon eğrisinden ( $y = 5,1685x + 313,18$  ve  $R^2 = 0,991$ ) % 99 güvenilirlikte, 10-40 ng/mL doğrusal FB1 konsantrasyon aralığında, tayin sınırı, 3,69 ng/mL olarak hesaplandı.

**Tablo 5.2.** FB1 analizine yönelik bazı güncel çalışmaların tez çalışması ile kıyaslanması.

Elektrot	Yöntem	Tayin sınırı	Kaynaklar
Anti-FB1/AuNP modifiye yüzey	İmmünokromatografik kart testi	2 ng/mL	(Yu et al., 2015)
-	İmmünokromatografik kart testi	5 ng/mL	(Venkataramana et al., 2014)
Anti-FB1/AuNP/MB modifiye yüzey	Floresan rezonans enerji transferine dayalı yöntem	0,01 ng/mL	(Wu et al., 2013)
Anti-FB1/AuNP/GRP/Tiyonin/GCE	Amperometri	1 pg/mL	(Shi et al., 2015)
Anti-FB1/AuNP/PPy/ERGO/SPE	DPV	4,20 ng/mL	(Lu et al., 2016)
Anti-FB1/SWCNT/CHIT/GCE	DPV	2 pg/mL	(Yang et al., 2015)

<b>Elektrot</b>	<b>Yöntem</b>	<b>Tayin sınırı</b>	<b>Kaynaklar</b>
Anti-FB1/ PDMA/ MWCNT/ GCE	EIS	3,80 pg/L	(Masikini et al., 2016)
FB1 aptamer/TiO <sub>2</sub> -silikon yüzey	Floresans yoğunluğuna dayalı yöntem	0,21 pg/mL	(Liu et al., 2018)
FB1 aptamer/ AuNP/ GCE	EIS	2 pM	(Chen et al., 2015)
FB1 aptamer/GO modifiye yüzey	DPV	15 nM	(Cheng et al., 2018)
-	SPR	2 µg/kg	(Joshi et al., 2016)
PGE	EIS	3,69 ng/mL	Tez çalışması

Tablo 5.2’de özetlenen literatürdeki FB1 analizi için rapor edilen bazı çalışmalar (Venkataramana et al., 2014; Lu et al., 2016) ile tez çalışmasının sonuçları kıyaslandığında, tayin sınırının daha düşük olduğu saptandı. Ayrıca tez çalışmasında geliştirilen biyosensör, diğer biyosensör sistemleri ile kıyaslandığında AuNP modifiye elektrotlar (Shi et al., 2015; Lu et al., 2016; Chen et al., 2015), nanomalzeme modifiye elektrotlar (Yang et al., 2015; Cheng et al., 2018.; Shi et al., 2015; Lu et al., 2016), polimer modifiye elektrotlar (Lu et al., 2016; Masikini et al., 2016), ayrıca literatürde rapor edilen immünokromatografik sistemler (Yu et al., 2015; Venkataramana et al., 2014), aptamer temelli biyosensörler (Liu et al., 2018; Chen et al., 2015; Cheng et al., 2018) ve bazı optik biyosensör sistemlerine (Liu et al., 2018; Joshi et al., 2016; Wu et al., 2013) dayalı önceki çalışmaların aksine oldukça düşük maliyetli ve hızlı bir analize imkan sağladığı tespit edildi.

### **5.2.3. PGE, DNA-PGE, FB1-PGE ve FB1-DNA-PGE Yüzeylerinin Empedimetrik Davranışının İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma**

PGE, FB1 modifiye PGE, DNA modifiye PGE ve FB1 ile etkileşme çalışmasının yapıldığı DNA modifiye PGE ile ölçülen ortalama Rct değerleri sırasıyla,  $110,56 \pm 23,56$  Ohm (% RSD, % 21,29, n = 3),  $519,00 \pm 110,62$  Ohm (% RSD, % 21,31, n = 3),  $1948,67 \pm 250,65$  Ohm (% RSD, % 21,86, n = 3) ve  $2684,88 \pm 389,79$  Ohm (% RSD, % 14,52, n = 3) olarak hesaplandı. FB1 modifiye PGE ile ölçülen Rct değeri, DNA modifiye PGE ile ölçülen değere göre daha düşük olduğu gözlemlendi. Buradan, yüzeyde DNA olduğunda FB1’in DNA ile etkileşime girerek yüzeye çok daha fazla tutunduğu sonucuna varabiliriz. DNA modifiye PGE ile FB1 elektrot yüzeyinde etkileştikten sonra, DNA modifiye PGE’ye kıyasla Rct değerinde % 40,18’ lik bir artış gözlemlendi (Şekil 4.18b-d).

FB1’in DNA üzerinde genotoksik etki gösterdiği literatürde rapor edilmiştir (Ehrlich et al., 2002). FB1’in DNA üzerinde klastojenik (kromozomlarda yapısal değişikliklere sebep olma) etkiye sahip olduğunu belirten bazı çalışmalar mevcuttur (Klaric et al., 2008). Çalışmamızda, DNA ile FB1 arasındaki etkileşim empedimetrik yöntemle tayin edildi. DNA’nın şeker-fosfat omurgasında bulunan negatif yüklü fosfat grupları ve FB1’in DNA’ya bağlanmasıyla mikotoksinin

yüzeyinde bulunan karboksil gruplarının negativitesiyle, kümülatif olarak elektrot yüzeyinde negativitenin artması ve anyonik redoks probundaki negatif yükler arasındaki itme kuvvetinin artması nedeniyle, Rct değeri arttığı sonucuna varıldı.

#### **5.2.4. Fumonisin B1-DNA Etkileşim Süresindeki Değişimin Biyosensörün Yanıtına Etkisinin İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma**

Optimum konsantrasyonlarda DNA (10 g/mL) ve FB1 (40 ng/mL) kullanılarak 1, 3, 5, 15 ve 30 dakika olacak şekilde EIS yöntemi ile etkileşim süresi çalışıldı (Şekil 4.19). DNA-PGE'nin FB1 ile etkileşimi öncesi ve 3 dakika etkileşimi sonrasında, ölçülen ortalama Rct değerleri sırasıyla,  $1915,00 \pm 415,88$  Ohm (% RSD, % 21,68, n=3) ve  $2684,88 \pm 389,73$  Ohm (% RSD, % 14,52, n=3) olarak hesaplandı. Diğer sürelerle kıyasla 3 dakika süreyle etkileşimden sonrasında en yüksek Rct değeri elde edildi. 3 dakika etkileşim sonrası ölçülen Rct değerinin etkileşim öncesi ölçülen Rct değerinden 1,4 kat daha yüksek olduğu gözlemlendi. Dolayısıyla, optimum etkileşim süresi 3 dakika olarak belirlendi.

#### **5.2.5. Farklı Mikotoksinler Varlığında Seçimlilik Çalışmasına Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma**

Empedimetrik biyosensörün seçimliliği, sırasıyla OTA, ZEN ve DON olmak üzere farklı mikotoksinlerin FB1 ile 1:1 karışımı varlığında test edildi. OTA, ZEN ve DON, FB1 ile bir arada bulunma olasılığı en fazla olan mikotoksinler olduğundan seçimlilik çalışması, mikotoksinlerin karışımında gerçekleştirildi. DNA modifiye PGE'nin FB1 ile etkileşimi öncesi ve sonrası ölçülen Rct değerleri ile FB1 ile diğer toksinler OTA, ZEN, DON (1:1) karışımında etkileşim sonrası ölçülen Rct değerleri sırasıyla,  $1830,98 \pm 420,99$  Ohm (% RSD, % 22,99, n = 3),  $2555,57 \pm 416,81$  Ohm (% RSD, % 16,31, n = 3),  $2085,33 \pm 316,51$  (% RSD, % 15,18, n = 3),  $2122,25 \pm 424,84$  Ohm (% RSD, % 20,02, n= 3) ve  $2110,50 \pm 533,13$  (% RSD, % 25,26, n = 3) olarak hesaplandı. Rct değerinde en fazla artış (% 39,57), FB1'in DNA ile etkileşimi sonrasında elde edildi (Şekil 4.20a-b). FB1'in OTA, ZEN ve DON ile karışımlarında DNA ile

etkileşimi sonrasında Rct değerinde sırasıyla % 13,89, % 23,70, % 22,56 artış hesaplandı. Tasarlanan elektrokimyasal biyosensörün farklı mikotoksinlerin karışımı varlığında FB1'e seçimli bir davranış gösterdiğine karar verildi.







## 6. SONUÇLAR

Tez çalışmamızın ilk bölümünde kanser ve Alzheimer gibi önemli hastalıkların erken teşhisinde bir biyobelirteç olarak tanımlı miRNA-34a'nın empedimetrik yöntemle tayin edilmesi amacıyla kalem grafit elektrot yüzeyi (PGE), kovalent bağlayıcı ajan (CA) ve iyonik sıvı (IL) ile modifiye edilerek tek kullanımlık miRNA biyosensörü tasarlanmıştır. Biyosensör yüzeyinin mikroskobik karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal karakterizasyonu ise dönüşümlü voltametri (CV) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile yapılmıştır. Geliştirilen biyosensör ile deneysel koşullar optimize edildikten sonra seçimli ve duyarlı bir şekilde miRNA-34 tayini EIS tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Prob ve hedef dizinin hibridizasyonu sonrası elektrot yüzeyine modifiye edilen hibrit yapısındaki negatif yüklü fosfat grupları nedeniyle yüzeyde negativitede artış meydana gelmiştir. Elektrot yüzeyindeki artan negativite, ölçüm ortamındaki redoks probu çözeltisinde bulunan negatif yükler ile itme kuvveti oluşturup, dirençte artışa neden olmuştur. Tek başına prob dizi immobilize edilmiş elektroda kıyasla hibrid immobilize edilmiş elektrot yüzeyindeki negatif yükün daha fazla olması nedeniyle, redoks prob çözeltisi ile elektrot yüzeyi arasındaki itme kuvvetindeki artış incelenerek EIS tekniği ile elde edilen  $R_{ct}$  değerleri kıyaslanması sonucu hibridizasyon tayin edilmiştir. Optimize edilen koşullarda, geliştirilen biyosensör ile yapay serum (FBS) ortamında miRNA-34a tayini incelenerek uygulanabilirliği araştırılmıştır. Yapay serum ortamında miRNA-34a analizlerine yönelik bir sensör teknolojisi geliştirilmiş ve 0,826  $\mu\text{g/mL}$  gibi düşük tayin sınırına ulaşılmıştır. Farklı miRNA dizileri (miRNA-155, miRNA-181b) varlığında miRNA-34a tayini seçimli bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar, empedimetrik miRNA tayinine yönelik önceki çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (Erdem et al., 2017; Mandli and Amine, 2018; Azzouzi et al., 2017; Kilic et al., 2016). Gerçekleştirilen bu çalışma, IL modifiye edilen PGE kullanılarak miRNA tayinin hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılmasına olanak sağladığı için, gelecekte piyasaya sürülecek olan çip teknolojilerine uygulanabilecek bir ön çalışma niteliğindedir. Bu çalışma ile sağlık alanında kullanılacak düşük maliyetli, tek kullanımlık ve duyarlı bir

miRNA-34a sensörünün geliştirilebileceği gösterilmiştir. Çalışmamız IL-CA modifiye PGE ile empedimetrik yöntemle miRNA-34a'nın analizlendiği bir çalışma olup, literatürde benzer bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır.

Çalışmamızın Fumonisin B1 ve DNA etkileşiminin elektrokimyasal tayinine yönelik kısmında, kalem grafit elektrotlar kullanılarak EIS tekniği ile etkileşim tayini gerçekleştirilmiştir. Kalem grafit elektrot yüzeyine tek başına FB1 bağlandığında ve tek başına DNA bağlandığındaki Rct değerleri arasındaki farklanma yorumlanarak biyosensörün elektrokimyasal karakterizasyonu ve optimizasyonu yapılmıştır. Optimum olarak belirlenen DNA ve FB1 konsantrasyonlarında etkileşim çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Etkileşim öncesinde, DNA immobilize edilmiş PGE ile DNA'daki fosfat gruplarındaki negatif yüklerden dolayı ortamdaki redoks probunda bulunan negatif yükler arasındaki itme kuvvetine bağlı direnç artışı gözlenmiştir. Etkileşim sonrasında FB1'in yapısında bulunan karboksil gruplarından dolayı yüzeyin negativitesi daha da artmış, dolayısıyla Rct değerinde daha fazla bir artış gözlenmiştir. Literatürde ilk kez FB1-DNA etkileşimi empedimetrik olarak gösterilmiştir. FB1'in bir sekonder metabolit olarak özellikle hayvan yemlerinde doğal süreçte oluşumu ile hayvanlar, doğrudan ve dolaylı olarak etkilenen insanlar üzerinde ciddi hasarlara neden olmaktadır. FB1-DNA etkileşiminin aydınlatılması, FB1'in özellikle genotoksik etkisinin belirlenmesinde önem arz etmektedir.

Biyomoleküler etkileşimin elektrokimyasal algılanmasına yönelik olan tez çalışmamızda, IL modifiye edilmiş kovalent bağlayıcıyla zenginleştirilmiş tek kullanımlık kalem grafit elektrotlar (IL-CA-PGE) kullanılarak miRNA-34a tayini, pratik, ekonomik, hızlı, duyarlı ve seçimli bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca tek kullanımlık kalem elektrotlar ile genotoksik özellikte bir mikotoksin olan FB1 ve FB1'in DNA ile etkileşimi elektrokimyasal olarak tayin edilmiştir. Tez çalışmamızda geliştirilen tek kullanımlık biyosensör sistemleri ile yerinde analiz yapabilme imkanı verebilecek, hızlı, pratik, duyarlı ve seçimli analizlerin gerçekleştirilebileceği öngörülmektedir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

**Alizadeh, A.M., Roshandel, G., Roudbarmohammadi, S., Roudbary, M., Sohanaki, H., Ghiasian, S.A., Aghasi, M.,** 2012, Fumonisin B1 contamination of cereals and risk of esophageal cancer in a high risk area in northeastern Iran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(6):2625-2628 pp.

**Altay, C., Eksin, E., Congur, G., Erdem, A.,** 2015, Electrochemical monitoring of the interaction between Temozolamide and nucleic acids by using disposable pencil graphite electrodes, *Talanta*, 144:809–815 pp.

**Aykut, U. ve Temiz, H.,** 2006, Biyosensörler ve Gıdalarda Kullanımı, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2006(3): 51–59 s.

**Azimzadeh, M., Rahaie, M., Nasirizadeh, N., Naderi- Manesh, H.,** 2015, Application of Oracet Blue in a novel and sensitive electrochemical biosensor for the detection of microRNA, *Anal. Methods*, 7:9495–9503 pp.

**Azzouzi, S., Mak, W.C., Kor, K., Turner, A.P.F., Ali, M.B., Beni, V.,** 2017, An integrated dual functional recognition/amplification bio-label for the one-step impedimetric detection of Micro-RNA-21, *Biosens. Bioelectron.*, 92:154–161 pp.

**Bej, A.K.,** 1996, Chapter 1: Nucleic acid hybridizations: principles and strategies, *Nucleic acid analysis: Principles and Bioapplications*; Ed. Dangler, C.A., Wiley-Liss, Inc., s. 1-29 pp.

**Bettazzi, F., Hamid-Asl, E., Esposito, C.L., Quintavalle, C., Formisano, N., Laschi, S., Catuogno, S., Iaboni, M., Marrazza, G., Mascini, M.,** 2013, Electrochemical detection of miRNA-222 by use of a magnetic bead-based bioassay. *Anal. Bioanal. Chem.*, 405:1025–1034 pp.

**Brett, A. M. O., Serrano, S.H.P., Gutz, I., La-Scalea, M.A. and Cruz, M.L.,** 1997, Voltammetric behaviour of nitroimidazoles at a DNA biosensor, *Electroanalysis*, 9:1132-1137 pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

**Bulut, Y.**, 2011, “Biyosensörlerin Tanımı ve Biyosensörlere Genel Bakış”, 6th International Advanced Technologies Symposium (IATS’11), 16-18 May 2011, Elazig, Turkey.

**Cai, W., Xie, S., Tang, Y., Chai, Y., Yuan, R., Zhang, J.**, 2017, A label-free electrochemical biosensor for microRNA detection based on catalytic hairpin assembly and in situ formation of molybdophosphate, *Talanta*, 163:65–71 pp.

**Calin, G.A., Dumitru, C.D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E.**, 2002, Frequent deletions and downregulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99(24):15524-15529 pp.

**Calin, G.A., Sevignani, C., Dumitru, C.D., Hyslop, T., Noch, E., Yendamuri, S.**, 2004, Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers, *Proc Natl Acad Sci USA*, 101(9): 2999-3004 pp.

**Caliskan, A.**, 2009b, İlaç-DNA Etkileşimi ve DNA Analizleri İçin Elektrokimyasal Sensörlerin Geliştirilmesi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 109s.

**Caliskan, A., Erdem, A., Karadeniz, H.**, 2009a, Direct DNA hybridization on the single-walled carbon nanotubes modified sensors detected by voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy, *Electroanalysis*, 21: 2116-2124 pp.

**Canavar, P.E., Eksin, E., Erdem, A.**, 2015, Electrochemical monitoring of the interaction between mitomycin C and DNA at chitosan carbon nanotube composite modified electrodes, *Turkish Journal of Chemistry*, 39(1):1-12 pp.

**Cardoso, A. R., Moreira, F. T. C., Fernandes, R., Sales, M. G. F.**, Novel and simple electrochemical biosensor monitoring attomolar levels of miRNA-155 in breast cancer, *Biosens. Bioelectron.*, 80:621–630 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**CAST (Council for Agricultural Science and Technology)**, 2003, Mycotoxins Risks in plant, animal, and human systems. Task Force Report No. 139, *Council for Agricultural Science and Technology*, Ames, Iowa, USA. ISBN 1-887383-22-0.

**Congur, G., Eksin, E., Erdem, A.**, 2015, Impedimetric detection of microRNA at graphene oxide modified sensors, *Electrochim. Acta*, 172:20–27 pp.

**da Costa Martins, P.A., Leptidis, S., Salic, K., De Windt, L.J.**, 2010, MicroRNA regulation in cardiovascular disease. In *Currebt Drug Targets*; Bentham Science Publishers: Emirate of Sharjah, United Arab Emirates, 11: 900–906 pp.

**Chen, X., Huang, Y., Ma, X., Jia, F., Guo, X., Wang, Z.**, 2015, Impedimetric aptamer-based determination of the mold toxin fumonisin B1, *Microchimica Acta*, 182 (9-10):1709-1714 pp.

**Cheng, Z.X., Bonanni, A.**, All-in-One: Electroactive Nanocarbon as Simultaneous Platform and Label for Single-Step Biosensing, 2018, *Chemistry A European Journal*, 25:6380-6385 pp.

**Dharuman, V., Grunwald, T., Nebling, E., Albers, J., Blohm, L., Hintsche, R.**, 2005, Label-Free impedance detection of dligonucleotide hybridisation on interdigitated ultramicroelectrodes using electrochemical redox probes, *Biosens. and Bioelectron.*, 21:645-654 pp.

**Dinckaya, E., Akyilmaz, E., Telefoncu, A., Akgol, S.**, 1999, Eggplant tissue homogenate-based bioselective membrane electrode for determj nation of catechol, *Indian J Biochem Biophys.*, 36:36–38 pp.

**Dogan-Topal, B., Ozkan, S.A.**, 2011, A novel sensitive electrochemical DNA biosensor for assaying of anticancer drug leuprolide and its adsorptive stripping voltammetric determination, *Talanta*, 83 (3):780-788 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Ehrlich, V., Darroudi, F., Uhl, M., Steinkellner, H., Zsivkovits, M., Knasmueller, S.,** 2002, Fumonisin B(1) is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2) cells, *Mutagenesis*, 17(3):257-60 pp.

**Eksin, E.,** 2013b, DNA ve Protein Analizine Yönelik Elektrokimyasal Sensörlerin Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 101s.

**Eksin, E., Congur, G., Mese, F., Erdem, A.,** 2014, Electrochemical monitoring of surface confined interaction between 6-Thioguanine and DNA by using single-use graphite electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 733:33-38 pp.

**Eksin, E., Muti, M., Erdem, A.,** 2013a, Chitosan/Ionic liquid composite electrode for electrochemical monitoring of the surface-confined interaction between mitomycin C and DNA., *Electroanalysis*, 25:1–9 pp.

**Erdem, A. and Congur G.,** 2013, Impedimetric detection of in situ interaction between anti-cancer drug bleomycin and DNA, *International Journal of Biological Macromolecules*, 61:295–301 pp.

**Erdem, A. and Ozsoz, M.,** 2011, Chapter 2: Nucleic acids as biorecognition element in biosensor development, Nucleic Acid Biosensors for Environmental Pollution Monitoring, *Royal Society of Chemistry*, UK, 17-33 pp.

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

**Erdem, A.,** 2007, Nanomaterial based electrochemical DNA sensing strategies, *Talanta*, 74:318–325 pp.

**Erdem, A., Congur, G., Eksin, E.,** 2013, Multi channel screen printed array of electrodes for enzyme-linked voltammetric detection of microRNAs, *Sens. Act. B*, 188:1089–1095 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Erdem, A., Eksin, E., Congur, G.,** 2015, Indicator-free electrochemical biosensor for microRNA detection based on carbon nanofibers modified screen printed electrodes, *J. Electroanalytical Chemistry*, 755:167–173 pp.

**Erdem, A., Eksin, E., Isin, D., Polat, D.,** 2017, Graphene oxide modified chemically activated graphite electrodes for detection of microRNA, *Electroanalysis* 29:1-10 pp.

**Erdem, A., Karadeniz, H., Çalışkan, A.,** 2011, Dendrimer modified graphite sensors for detection of anticancer drug Daunorubicin by voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy, *Analyst*, 136 (5):1041 – 1045 pp.

**Erdem, A., Muti, M., Mese, F., Eksin, E.,** 2014, Chitosan-ionic liquid modified single-use sensor for electrochemical monitoring of sequence-selective DNA hybridization, *Colloids Surf., B*, 114:261–268 pp.

**Feng, X., Gan, N., Zhang, H., Li, T., Cao, Y., Hu, F., Jiang, Q.,** 2016, Ratiometric biosensor array for multiplexed detection of microRNAs based on electrochemiluminescence coupled with cyclic voltammetry, *Biosens. Bioelectron.*, 75:308–314 pp.

**Frisvad, J.C. and Thrane, U.,** 1987, Standardized high-performance liquid chromatography of 182 mycotoxins and other fungal metabolites based on alkylphenone retention indices and UV–vis spectra (diode array detection), *J. Chromatogr.*, 404:195–214 pp.

**Howard, P.C., Eppley, R.M., Stack, M. E.,** 2001, Fumonisin B1 carcinogenicity in a 2-year feeding study using F344 rats and B6C3F1 mice. *Environ. Health Perspect.*, 109:277–282 pp.

**Hunt, E. A., Goulding, A. M., Deo, S. K.,** 2009, Direct detection and quantification of microRNAs, *Anal. Biochem.* 387:1–12 pp.

**Isin, D., Eksin, E., Erdem, A.,** 2017, Graphene oxide modified single-use electrodes and their application for voltammetric miRNA analysis. *Mater. Sci. Eng., C*, 75:1242–1249 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Janek, R.P. and Fawcett, W.R.**, 1998, Impedance spectroscopy of self-assembled monolayers on Au(111): Sodium ferrocyanide charge transfer at modified electrodes. *Langmuir*, 14;3011–3018 pp.

**Jelen, F., Erdem, A., Palecek, E.**, 2002, Cyclic voltammetry of Echinomycin and its interaction with double-stranded and single-stranded DNA adsorbed at the electrode, *Bioelectrochem.*, 55: 165-167 pp.

**Jin, H.Y. and Xiao, C.**, 2015, MicroRNA Mechanisms of Action: What have We Learned from Mice? *Front. Genet.*, 6:328 p.

**Joshi, S., Segarra-Fas, A., Peters, J., Zuilhof, H., van Beek T. A., Nielen, M.W.F.**, Multiplex surface plasmon resonance biosensing and its transferability towards imaging nanoplasmonics for detection of mycotoxins in barley, 2016, *Analyst*, 141:1307-1318 pp.

**Karimi-aleh, H., Tahernejad-Javazmi, F., Atar, N., Yola, M.L., Gupta, V.K., Ensafi, A.A.**, A Novel DNA Biosensor Based on a Pencil Graphite Electrode Modified with Polypyrrole/Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes for Determination of 6-Mercaptopurine Anticancer Drug, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2015, 54:3634-3639 pp.

**Khan, R.B., Phulukdaree, A., Chuturgoon, A.A.**, 2018, Fumonisin B1 induces oxidative stress in oesophageal (SNO) cancer cells. *Toxicon*, 141: 104-111 pp.

**Kilic, T., Erdem, A., Erac, Y., Seydibeyoglu, M.O., Okur, S., Ozsoz, M.**, 2015, Electrochemical detection of a cancer biomarker mir-21 in cell lysates using graphene modified sensors, *Electroanalysis*, 27:317–326 pp.

**Kilic, T., Erdem, A., Ozsoz, M., Carrara, S.**, 2018, microRNA biosensors: Opportunities and challenges among conventional and commercially available techniques. *Biosensors and Bioelectronics*, 99:525-546 pp.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Kilic, T., Kaplan, M., Demiroglu, S., Erdem, A., Ozsoz, M.,** 2016, Label-free electrochemical detection of microRNA-122 in real samples by graphene modified disposable electrodes, *J. Electrochem. Soc.*, 163:B227-B233 pp.

**Kim, V. N.,** 2005, MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing, *Nature reviews Molecular cell biology*, 6(5):376 p.

**Klaric, M., Pepeljnjak, S., Rozgaj, R.,** 2008, Genotoxicity of Fumonisin B1, Beauvericin and Ochratoxin A in Porcine Kidney PK15 Cells: Effects of Individual and Combined Treatment Croat. *Chem. Acta.* 81(1):139–146 pp.

**Kouadio, J.H., Mobio, T.A., Baudrimont, I., Moukha, S., Dano, S.D., Creppy, E.E.,** 2005, Comparative study of cytotoxicity and oxidative stress induced by deoxynivalenol, zearalenone or fumonisin B1 in human intestinal cell line Caco-2. *Toxicology*, 213 : 56–65 pp.

**Lan, H., Lu, H., Wang, X., Jin, H.,** 2015, MicroRNAs as potential biomarkers in cancer: opportunities and challenges. *BioMed research international*, 2015:17 p.

**Levison, P.R., Dennis, J.W., Jones, K.D., Philpott, R.W., Taylor, S L., Grimm, V.,** 1998, New approaches in the binding of DNA for clinical applications, *Clinical Chemistry*, 44: 2060-2061 pp.

**Li, F., Peng, J., Wang, J., Tang, H., Tan, L., Xie, Q., Yao, S.,** 2014, Carbon nanotube-based label-free electrochemical biosensor for sensitive detection of miRNA-24, *Biosensors and Bioelectronics*, 54:158–164 pp.

**Ling, S., Pang, J., Yu, J., Wang, R., Liu, L., Ma, Y., Wang, S.,** 2014, Preparation and identification of monoclonal antibody against fumonisin B1 and development of detection by Ic-ELISA. *Toxicol.*, 80:64-72 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Liu, R., Li, W., Cai, T., Deng, Y., Ding, Z., Liu, Y., Zhu, X., Wang, X., Liu, J., Liang, B., Zheng, T., Li, J.,** 2018, TiO<sub>2</sub> Nanolayer-Enhanced Fluorescence for Simultaneous Multiplex Mycotoxin Detection by Aptamer Microarrays on a Porous Silicon Surface, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, (10)17:14447-14453 pp.

**Liu, Q., Ma, C., Liu, X.P., Wei, Y.P., Mao, C.J., Zhu, J. J.,** 2017, A novel electrochemiluminescence biosensor for the detection of microRNAs based on a DNA functionalized nitrogen doped carbon quantum dots as signal enhancers, *Biosens. Bioelectron.*, 92:273–279 pp.

**Lu, L., Seenivasan, Y.C., Wang, J.H., Yu, S.,** 2016, Gunasekaran, An electrochemical immunosensor for rapid and sensitive detection of mycotoxins fumonisin B1 and deoxynivalenol. *Electrochimica Acta.*, 213:89-97 pp.

**Mandli, J. and Amine, A.,** 2018, Impedimetric genosensor for miRNA-34a detection in cell lysates using polypyrrole, *J. Solid State Electrochem.*, 22:1007–1014 pp.

**Masikini, M., Williams, A.R., Sunday, C.E., Waryo, T.T., Nxusani, E., Wilson, L., Baker, P.G.,** 2016, Label Free Poly (2, 5-dimethoxyaniline)–Multi-Walled Carbon Nanotubes Impedimetric Immunosensor for Fumonisin B1 Detection. *Materials.*, 9(4):273 p.

**Mehrotra, P.,** 2016, Biosensors and their applications-A review, *J Oral Biol Craniofac Res.*, 6(2):153-159 pp.

**Mehrvar, M., Bis, C., Scharer, J. M., Young, M. M., Luong, J. H.,** 2000, Fiber-Optic Biosensors. Trends and Advances. *Analytical Sciences*, 16(7):677–692 pp.

**Meng, X., Zhou, Y., Liang, Q., Qu, X., Yang, Q., Yin, H., Ai, S.,** 2013, Electrochemical determination of microRNA-21 based on bio bar code and hemin/G-quadruplet DNA enzyme, *Analyst*, 138:3409-3415 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Miao, X., Wang, W., Kang, T., Liu, J., Shiu, K. K., Leung, C. H., Ma, D. L.,** 2016, Ultrasensitive electrochemical detection of miRNA-21 by using an iridium(III) complex as catalyst, *Biosensors and Bioelectronics*, 86:454–458 pp.

**Miller, J.N. and Miller, J.C.,** 2005, *Statistics and Chemometrics For Analytical Chemistry*, Pearson Education, London, England, 213–240 pp. ISBN: 978-0-273-73042-2.

**Mohanty, S. P. and Kouciasos, E.,** 2006, Biosensors: A tutorial review. *IEEE Potentials*, 25(2): 35–40 pp.

**Monk, P.,** 2002, *Fundamentals of electroanalytical chemistry*, Wiley & Sons, England, 14p.

**Narry, K.V.,** 2005, Small RNAs: Classification, Biogenesis, and Function, *Mol Cells*, 19(1):1-15 pp.

**Orazem M. E. and Tribollet, B.,** 2008, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*, John Wiley & Sons, England, s. 447-459 pp.

**Palecek, E. and Bartosik, M.,** 2012, Electrochemistry of nucleic acids, *Chem. Rev.*, 112:3427–3481 pp.

**Palecek, E. and Fojta, M.,** 2001, DNA hybridization and Damage, *Anal.Chem.*, 73: 75A-83A pp.

**Reimer, L.,** 2013, *Scanning Electron Microscopy: Physics of Image Formation and Microanalysis*, Springer, 45:1-3 pp.

**Ren, R., Leng, C., Zhang, S.,** 2010, A chronocoulometric DNA sensor based on screen-printed electrode doped with ionic liquid and polyaniline nanotubes, *Biosens. Bioelectron.*, 25:2089–2094 pp.

**Schonrock, N., Matamales, M., Ittner, L.M., Götz, J.,** 2012, MicroRNA networks surrounding APP and amyloid- $\beta$  metabolism-implications for Alzheimer's disease. *Exp. Neurol.*, 235:447–454 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Sengiz, C., Congur, C., Erdem, A.,** 2015, Development of Ionic Liquid Modified Disposable Graphit Electrodes for Label-Free Electrochemical Detection of DNA Hybridization Related to *Microcystis* spp. *Sensors*, 15:22737–22749 pp.

**Sharma, S. K., Singhal, R., Malhotra, B. D., Sehgal, N., & Kumar, A.,** 2004, Lactose biosensor based on Langmuir-Blodgett films of poly(3-hexyl thiophene). *Biosensors and Bioelectronics*, 20(3):651–657 pp.

**She, Y., Tang, Y., Liu, H., He, P.,** 2010, Electrochemical determination of hydroquinone using hydrophobic ionic liquid-type carbon paste electrodes, *Chem. Cent. J.*, 4:17–25 pp.

**Sheng, Y., Jiang, W., De Saeger, S., Shen, J., Zhang, S., Wang, Z.,** 2012, Development of a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of fumonisin B1 in maize. *Toxicon.*, 60(7):1245-1250 pp.

**Shenouda, S.K. and Alahari, S.K.,** 2009, MikroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor, *Cancer Metastasis Rev.*, 28(3-4):369-378 pp.

**Shi, Z.Y., Zheng, Y.T., Zhang, H.B., He, C.H., Wu, W.D., Zhang, H.B.,** 2015, DNA electrochemical aptasensor for detecting fumonisins B1 based on graphene and thionine nanocomposite, *Electroanalysis*, 27 (5):1097-1103 pp.

**Shu, M., Xu, Y., Liu, X., Li, Y., He, Q., Tu, Z., Hammock, B. D.,** 2016, Anti-idiotypic nanobody-alkaline phosphatase fusion proteins: Development of a one-step competitive enzyme immunoassay for fumonisin B1 detection in cereal, *Analytica chimica acta.*, 924:53-59 pp.

**Shuai, H.L., Huang, K.J., Chen, Y.X., Fang, L.X., Jia, M.P.,** 2017, Au nanoparticles/hollow molybdenum disulfide microcubes based biosensor for microRNA-21 detection coupled with duplex-specific nuclease and enzyme signal amplification, *Biosens. Bioelectron.*, 89:989–997 pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

**Skoog, D. A., Holler, F.J. and Nieman T.A.**, 1998, Enstrümantal analiz İlkeleri, Kılıç E., Köseoğlu, F. Ve Yılmaz, H., (Eds.), Bilim Yayıncılık, Ankara, 563 s.

**Skoog, D. A., West, D. A. and Holler, F. J.**, 1996, Analitik Kimyanın Temelleri, Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, (Eds.), Bilim Yayıncılık, 303 s.

**Sun, E., Wang, L., Zhou, X., Ma, C., Sun, Y., Lei, M., Lu, B., Han, R.**, 2015, Graphene oxide/DNA-decorated electrode for the fabrication of microRNA biosensor, *RSC Adv.* 5:69334-69338 pp.

**Tao, Y., Yin, D., Jin, M., Fang, J., Dai, T., Li, Y., Li, Y.X., Pu, Q., Xie, G.**, 2017, Double-loop hairpin probe and doxorubicin-loaded gold nanoparticles for the ultrasensitive electrochemical sensing of microRNA, *Biosens. Bioelectron.*, 96:99–105 pp.

**Top, M., Er, O., Congur, G., Erdem, A., Lambrecht, F.Y.**, 2016, Intracellular uptake study of radiolabeled anticancer drug and impedimetric detection of its interaction with DNA, *Talanta*, 160:157-163 pp.

**Tural, H., Gökçel, İ. ve Ertaş, N.**, 2006, Enstrümantal Analiz I elektroanalitik yöntemler, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir, No:186, 2. Baskı, 131-206 s.

**Tüfekci, K.U., Öner, M.G., Meuwissen, R.L.J., Genç, Ş.**, 2014, The Role of MicroRNAs in Human Diseases. In *miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*; Yousef, M.; Allmer, J., Eds.; Humana Press: Totowa, NJ, USA, 1107: 33–50 pp.

**Ueno, Y., Iijima, K., Wang, S-D.**, 1997, Fumonisin as a possible contributing risk factor for primary liver cancer: A 3-year study of corn harvested in Haimen, China by HPLC and ELISA. *Food Chem. Toxicol.*, 35:1143–1150 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Unal, D.N., Eksin, E., Erdem, A., 2018,** Electrochemical Determination of 6-Thioguanine and Its Interaction with DNA Oligonucleotides Using Disposable Graphite Pencil Electrodes, *Analytical Letters*, 51 (1–2):265–278 pp.

**Vaisocherová, H., Šípová, H., Víšová, I., Bocková, M., Špringer, T., Ermini, M.L., Song, X., Krejčík, Z., Chrastinová, L., Pastva, O., 2015,** Rapid and sensitive detection of multiple microRNAs in cell lysate by low-fouling surface plasmon resonance biosensor. *Biosens. Bioelectron.* 70: 226–231 pp.

**Venkataramana, M., Navya, K., Chandranayaka, S., Priyanka, S.R., Murali, H.S., Batra, H.V., 2014,** Development and validation of an immunochromatographic assay for rapid detection of fumonisin B1 from cereal samples. *Journal of food science and technology.*, 51(9):1920-1928 pp.

**Waldman, S.A. and Terzic, A., 2009,** Applications of microRNA in cancer: Exploring the advantages of miRNA. *Clin. Transl. Sci.* 2:248–249 pp.

**Wang, J and Kawde, A.N., 2001,** Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization, *Anal. Chim. Acta*, 431:219–224 pp.

**Wang, J., 2005,** Nanomaterial-based electrochemical biosensors, *Analyst*, 130:421-426 pp.

**Wei, D. and Ivaska, A., 2008,** Applications of ionic liquids in electrochemical sensors, *Anal. Chim. Acta*, 607:126–135 pp.

**Wei, Z.L., Li, Z.J., Sun, X.L., Fang, Y.J., Liu, J.K., 2010,** Synergistic contributions of fullerene, ferrocene, chitosan and ionic liquid towards improved performance for a glucose sensor, *Biosens. Bioelectron.* 25:1434–1438 pp.

**Wu, S., Duan, N., Li, X., Tan, G., Ma, X., Xia, Y., Wang, H., 2013,** Homogenous detection of fumonisin B(1) with a molecular beacon based on fluorescence resonance energy transfer between NaYF<sub>4</sub>: Yb, Ho upconversion nanoparticles and gold nanoparticles, *Talanta.* 116:611-618 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Xi, F., Liu, L., Wu, Q., Lin, X.,** 2008, One-step construction of biosensor based on chitosan-ionic liquid-horseradish peroxidase biocomposite formed by electrodeposition, *Biosens. Bioelectron.*, 24:29–34 pp.

**Yang, X., Zhou, X., Zhang, X., Qing, Y., Luo, M., Liu, X., Qiu, J.,** 2015, A highly sensitive electrochemical immunosensor for fumonisin B1 detection in corn using single-walled carbon nanotubes/chitosan. *Electroanalysis*, 27(11):2679-2687 pp.

**Yapasan, E., Caliskan, A., Karadeniz, H., Erdem, A.,** 2010, Electrochemical investigation of biomolecular interactions between platinum derivatives and DNA by carbon nanotubes modified sensors, *Materials Science and Engineering: B*, 169:169–173 pp.

**Yu, P., Lin, Y., Xiang, L., Su, L., Zhang, J., Mao, L.,** 2005, Molecular films of water-miscible ionic liquids formed onto glassy carbon electrode: characterization and electrochemical applications, *Langmuir*, 21:9000–9006 pp.

**Yu, Q., Li, H., Li, C., Zhang, S., Shen, J., Wang, Z.,** 2015, Gold nanoparticles-based lateral flow immunoassay with silver staining for simultaneous detection of fumonisin B1 and deoxynivalenol, *Food Control*, 54: 347-352 pp.

**Zhang, P., Li, Z., Wang, H., Zhou, Y., Yuan, R., Chai, Y.,** 2017, DNA nanomachine-based regenerated sensing platform: a novel electrochemiluminescence resonance energy transfer strategy for ultra-high sensitive detection of microRNA from cancer cells, *Nanoscale*, 9:2310–2316 pp.

**Zhang, Y., Liu, Y., Chu, Z., Shi, S., Jin, W.,** 2013, Amperometric glucose biosensor based on direct assembly of Prussian blue film with ionic liquid-chitosan matrix assisted enzyme immobilization. *Sens. Actuators B Chem.*, 176:978–984 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Zhou, Y., Wang, M., Xu, Z., Ni, C., Yin, H., Ai, S.,** 2014, Investigation of the effect of phytohormone on the expression of microRNA-159a in *Arabidopsisthaliana* seedlings based on mimic enzyme catalysis systematic electrochemical biosensor, *Biosens. Bioelectron.*, 54:244–250 pp.





## TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca maddi manevi her anlamda destek veren, yol gösteren, bilimsel anlamda gelişmemi sağlayan saygı değer danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP)'ne 18-FBE-003 no'lu proje kapsamında sağladıkları maddi ve manevi destekleri için teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında desteklerini gördüğüm tüm çalışma arkadaşlarıma, ve bu aşamaya gelmemde önemli katkıları olan tüm hocalarıma teşekkürü borç bilirim. Her başarımda şüphesiz en büyük katkıyı sağlayan, yanımda olan, bana her zaman inanan ve destek olan biricik Aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca beni her zaman motive eden sevgili Ersel'e teşekkür ederim.

İzmir

Ece KESİCİ

31 Temmuz 2019



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

**Adı Soyadı:** Ece KESİCİ

**Doğum Tarihi:** 06.12.1993

**Doğum Yeri:** Balıkesir

**E-mail adresi:** e.kesici93@gmail.com

### Eğitim Bilgileri:

- Ege Üniversitesi-Fen Bilimleri Enstitüsü-Biyoteknoloji Alanında Tezli Yüksek Lisans Eğitimi, İzmir (2016-2019)
- Ege Üniversitesi-Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü, İzmir (2011-2016)
- Edremit Körfez Anadolu Lisesi, Balıkesir (2007-2011)

### Kazanılan Başarılar :

- Ege Üniversitesi-Fen Fakültesi Üçüncülüğü (2016)
- Ege Üniversitesi-Fen Fakültesi-Biyokimya Bölümü İkinciliği (2016)
- Edremit Körfez Anadolu Lisesi-Lise Birinciliği (2011)
- Türk Eğitim Vakfı Başarı Ödülü (2015-2016)

### Aldığı Burslar:

- Türk Eğitim Vakfı Yüksek Öğrenim Bursu (Aralık 2013-Haziran 2016)

### Yer aldığı projeler:

- 215Z702 no'lu TÜBİTAK projesi, Bursiyer araştırmacı (18 Şubat 2017-17 Mayıs 2018)
- 18-FBE-003 BAP Projesi, Ege Üniversitesi, Araştırmacı (Şubat 2018-Ağustos 2019)

### SCI'de taranan dergilerde yayımlanan uluslararası araştırma makaleleri:

- **Ece Kesici, Ece Eksin, Arzum Erdem**, “An Impedimetric Biosensor Based on Ionic Liquid-Modified Graphite Electrodes Developed for microRNA-34a Detection”, **Sensors**, 2018, 18(9), 2868. <https://doi.org/10.3390/s18092868>

- **Arzum Erdem, Ece Eksin, Ece Kesici, Ece Yaralı, Erkin Kanat**, “Single-use sensor technology for monitoring of zearalenone in foods: ZentoSens”, **Microchemical Journal**, 2019, 147, 37-42.  
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.03.001>
- **Ece Kesici, Arzum Erdem**, “Impedimetric detection of Fumonisin B1 and its biointeraction with fsDNA”, **International Journal of Biological Macromolecules**, 2019, baskıda.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.024>

#### **Katkıda bulunduğu kitap bölümleri:**

- **Arzum Erdem, Ece Eksin, Ece Kesici**, “Chapter 15 - Biosensors for Detection of Anticancer Drug–DNA Interactions”, **Biosensors and Nanotechnology: Applications in Health Care Diagnostics/Wiley**, Editör: Zeynep Altintas, Sayfa: 349-365, 2017.  
<https://doi.org/10.1002/9781119065036.ch15>
- **Arzum Erdem, Ece Eksin, Ece Kesici, Ece Yaralı**, “Chapter 10 - Dendrimers Integrated Biosensors for Healthcare Applications”, **Nanotechnology and Biosensors/ELSEVIER**, Editörler: Dimitrios P. Nikolelis ve Georgia - Paraskevi Nikoleli, Sayfa: 307-317, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813855-7.00010-6>

#### **Ulusal ve Uluslararası Toplantılarda Sunulan Bildiriler :**

- Selen Soyalp, Hamdi Aydın, Cansu Özgül Turan, **Ece Kesici, Ece Yaralı, Arzum Erdem**, “Voltammetric Nucleic Acid Detection Based On Carbon Nanotubes Composite Modified Biosensor”, 4. Uluslararası Kompozit Malzemeler Sempozyumu (KOMPEGE 2018), 6-8 Eylül 2018, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Ece Eksin, **Ece Kesici, Ece Yaralı, Erkin Kanat, Arzum Erdem**, “Gıdalarda Mikotoksin Tayini için Kullan-At Sensör Teknolojisi”, 5.Uluslararası Gıda Ar-Ge Proje Pazarı, 25 Mayıs 2017, Swissotel Grand Efes Otel, İzmir.