

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**RADYOİİYOT İŞARETLİ NOKTASAL ÖZELLİKLİ
Cd(Se) NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ VE
BİYO-AFFİNİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Özlet AKÇA

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Perihan ÜNAK

Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 622.02.01

Sunuş Tarihi : 30.07.2010

Bornova-İZMİR

2010

Sayın Özlet AKÇA tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “Radyoiyot İşaretli Noktasal Özellikli Cd(Se) Nanoparçacıkların Sentezi ve Biyo-affinitelerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 30.07.2010 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:**İmza**

Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Perihan ÜNAK
Raportör Üye	: Doç. Dr. F. Zümrüt BİBER MÜFTÜLER
Üye	: Doç. Dr. Türkan ERTAY
Üye	: Doç. Dr. Serkan SAKARYA
Üye	: Doç. Dr. Suna TİMUR

ÖZET**RADYOİYOT İŞARETLİ NOKTASAL ÖZELLİKLİ Cd(Se)
NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ VE BİYO-AFFİNİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

AKÇA, Özlet

Yüksek Lisans Tezi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Perihan ÜNAK

Temmuz 2010, sayfa 70

Bu çalışmada, kararlı floresans özellik gösteren CdSe/CdS kuantum dot (Q) nanoparçacıklar sentezlenmiş, sentezi yapılan Q'lara biyokonjugat olarak şeker türevi mannoz triflat-sisteamin ve SNA (Sambucus Nigra Agglutinin) lektin ayrı ayrı ve birlikte konjuge edilmiş ve sentezlenen nanoparçacıklara I-131 ve I-125 ile nükleofilik süstitüsyon veya iodojen metodları ile radyoiyot bağlanmıştır. AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) ve SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) ile nanoparçacıklar karakterize edilmiştir. AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) sonuçları parçacık boyutlarının 7-12 nm olduğunu göstermiştir.

Çıkış maddesi olan mannoz triflat molekülü ve radyo koruyucu olarak etkili bir ajan olan sisteamin molekülünün (MTS) CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara konjugasyonu sonucu elde edilen karbohidrat bağlı kuantum dot nanoparçacıklarının ve bunlara takılan SNA lektin gibi biyomoleküllere konjuge I-131 işaretli nanoparçacıkların tavşanlarda görüntüleme çalışmaları yapılmıştır. Çalışmanın görüntüleme aşamasında radyo işaretli nanoparçacıkların tüm vücut biyodağılımını gözlemlemek için Yeni Zellanda tavşanı kullanılmıştır ve tüm vücut statik görüntüleri alınarak *in vivo* etkinliği tespit edilmiştir.

Diğer yandan I-125 ile işaretli Q, Q-MTS, Q-SNA ve SNA'nın MCF-7, Caco-2 ve A-549 kanser hücrelerine bağlanmaları *in vitro* olarak incelenmiştir. I-125 işaretli örnekler, üzerinde çalışılan hücreler üzerinde farklı bağlanma oranları göstermişlerdir. Q-SNA tüm hücre tiplerinde diğerlerine göre daha yüksek bağlanma oranı göstermiştir. Q-SNA'nın özellikle MCF-7 hücresine ilgisi yönünden istatikselsel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

Elde edilen sonuçlar ileride daha detaylı çalışmalar başlatılabilmesi açısından son derece umut vaat edicidir. Noktasal özellik gösteren kuantum dot nanopartiküller, kolay hazırlanmaları, biyokonjugasyona olan yatkınlıkları ve floresan özellik göstermelerinden dolayı;

- Dual mod görüntüleme,
- Hedeflenmiş terapide
- Hücre tanıma amaçlı biyosensör uygulamalarında yararlı olabilirler.

Anahtar sözcükler: CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklar, ^{125}I ve ^{131}I , Mannoz triflat, Sisteamin, SNA, MCF-7, Caco-2, A-549.

ABSTRACT**SYNTHESIS OF RADIOIODINE LABELLED Cd(Se) QUANTUM DOT NANOPARTICLES AND INVESTIGATION OF BIOAFFINITE**

AKCA, Ozlet

MSc in Nuclear Sciences

Supervisor: Prof. Dr. Perihan UNAK

July 2010, 70 pages

In this study, CdSe/CdS quantum dots nanoparticles were synthesized, that show stable fluorescence properties. CdSe/CdS quantum dots (Q) were separately and together conjugated with derivative of sugar mannose triflate-cysteamine and SNA (Sambucus Nigra Agglutinin) lectin. After then, they were radioiodinated with I-131 and I-125 both nucleophilic substitution and iodogen method. Q were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM) and Atomic Force Microscopy (AFM). AFM images showed that mean sizes of the quantum dots were the range of 7-12 nm.

The output materials mannose triflate molecules and an effective agent as radioprotective molecule cysteamine were conjugated with CdSe quantum dot nanoparticles to obtain carbohydrate attached quantum dot nanoparticles and biomolecules like SNA lectin conjugated to these quantum dot nanoparticles were marked with ^{131}I was used for the assessment of imaging properties on rabbits. At the imaging phase of the study, the whole body biodistribution of the the radio labeled nanoparticles on New Zealand rabbits were examined and *in vivo* activity were determined by taking dynamic displays and static images of the whole body.

On the other hand, I-125 labeled Q, Q-MTS, Q-SNA and SNA were examined biological activity on *in vitro* MCF-7, Caco-2 and A-549. I-125 labeled samples, presented different incorporation ratio for the MCF-7, Caco-2 and A-549 cancer cells. Incorporation ratio of I-125 labeled Q-SNA was the highest for all cells comparing to other cells. Also incorporation ratio of I-125 labeled Q-SNA was statistically significant than I-125 labeled other samples MCF-7 cells.

Obtained results significantly give hope to for begin more detailed studies in future. Since quantum dot nanoparticles are easy to prepare, predisposed for bioconjugation and have fluorescence imaging properties and that may be efficiently;

- Dual mode imaging,
- Targeted therapy
- Purposeful for cell definiton biosensing applications.

Keywords: CdSe/CdS quantum dot nanoparticles, ^{125}I ve ^{131}I , Mannose triflate, Cysteamine, SNA, MCF-7, Caco-2, A-549.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmalarım süresince engin bilgisini, her türlü manevi destek ve yardımlarını esirgemeyen Tez Danışmanım ve Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Müdürü ve Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Perihan ÜNAK'a, bilgi ve deneyimlerini paylaşan Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı'nda Sayın Doç. Dr. Suna TİMUR'a, Dokuz Eylül Üniversitesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda Sayın Doç. Dr. Türkan Ertay'a ve Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürü Sayın Doç. Dr. Serhan SAKARYA'ya, her konuda yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. E. İlker MEDİNE'ye, Araş. Gör. Çiğdem İÇHEDEF'e ve tüm çalışma arkadaşlarıma, her zaman beni yüreklendirerek yanımda olan aileme, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen Çağlar ÖZDEMİR'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Kanser	4
2.2 Nanobiyoteknoloji	5
2.3 Kuantum Dot Nanoparçacıklar	6
2.4 Lektin	8
2.5 Mannoz triflat ve Sisteamin	9
2.6 Radyoaktif İyot İzotopları	10
2.7 Analiz ve Kalite Kontrol İşlemlerinde Kullanılan Kromatografik Yöntemler	11
2.7.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	11
2.7.2 İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)	13

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.8 Kuantum Dotların Karakterizasyonunda Kullanılan Yöntemler	14
2.8.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	14
2.8.2 Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)	15
2.8.3 Floresans Mikroskobu	16
3. MATERYAL VE METOD	17
3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	17
3.1.1 Kullanılan Kimyasallar	17
3.1.2 Kullanılan Cihazlar	18
3.2 Kimyasal Sentez Basamakları	19
3.2.1 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların Hazırlanması	19
3.2.2 Mannoz triflat-Sisteamin Bileşiğinin Sentezi	20
3.2.3 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların Mannoz triflat-Sisteamin Bileşiği ile Konjugasyonu	20
3.2.4 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıklara ve Mannoz triflat-Sisteamin Bileşiği Konjuge CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıklara SNA Lektininin Bağlanması	21
3.2.5 Mannoz triflat-Sisteamin-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların ve Mannoz triflat-Sisteamin-SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların ¹²⁵ I ile İşaretlenmesi	21

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2.5.1 Nükleofilik Süstitüsyon Yöntemi ile İyodinasyon	21
3.2.6 SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların ve SNA' nın ¹²⁵ I ile İşaretlenmesi	22
3.2.6.1 İdojen Yöntemi	22
3.2.6.2 İdojen Film Kaplı Tüplerin Hazırlanması	22
3.2.6.3 SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların ¹²⁵ I ile İşaretlenmesi .	23
3.2.6.4 SNA' nın ¹²⁵ I ile İşaretlenmesi	23
3.3 Analiz ve Kalite Kontrol İşlemlerinde Kullanılan Kromatografik Yöntemler	23
3.3.1 İnce Tabaka Radyo Kromatografi Yöntemi (TLRC).....	23
3.3.2 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Yöntemi (HPLC)	24
3.4 Karakterizasyon Çalışmaları.....	25
3.5 Hücre Kültürü Çalışmaları.....	26
3.5.1 Hücre Kültürünün Hazırlanması.....	26
3.5.1.1 Hücre Sayımı	26
3.5.2 Hücre Görüntüleme Çalışması.....	27
3.5.3 Biyoaffinitenin İncelenmesi	27
3.5.3.1 I-125 İşaretli Örneklerin MCF-7, Caco-2 ve A-549 Hücreleri Üzerindeki Bağlanma Etkinliğinin Zamana Bağlı Değişimi.....	27

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
3.6 Tavşanlarda Görüntüleme Çalışması	30
3.7 İstatistik Analizler	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
4.1 Reaksiyon Mekanizmaları.....	31
4.1.1 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların Hazırlanması	31
4.1.2 Mannoz triflat-Sisteamin Bileşiğinin Sentezi	31
4.1.3 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların Mannoz triflat-Sisteamin Bileşiği ile Konjugasyonu	32
4.1.4 Mannoz triflat-Sisteamin Konjuge CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıklara SNA'nın Bağlanması.....	32
4.1.5 Mannoz triflat-Sisteamin-SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların I-125 ile İşaretlenmesi.....	33
4.1.5.1 Nükleofilik Sübstitüsyon Yöntemi ile İyodinasyon.....	33
4.1.5.2 İodojen Yöntemi ile İyodinasyon.....	34
4.2 Kalite Kontrol Çalışmalarının Sonuçları.....	34
4.2.1 TLRC Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçlar	34
4.2.1.1 ¹²⁵ I ile işaretli SNA ve SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıklara ilişkin TLRC Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçlar	34

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
4.2.1.2 ¹²⁵ I ile işaretli Mannoz triflat-Sisteamin-CdSe/CdS Kuantum dot Nanoparçacıklara ve SNA-Mannoz triflat-Sisteamin- CdSe/CdS Kuantum dot Nanoparçacıklara ilişkin TLRC Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçlar	37
4.2.2 HPLC ile Elde Edilen Sonuçlar	40
4.3 Parçacıkların Karakterizasyonu	42
4.3.1 SEM Analiz Sonuçları	42
4.3.2 AFM Sonuçları	43
4.3.3 Floresans ve Absorbsiyon Spektroskopisi Sonuçları.....	45
4.3.4 Floresans Mikroskobu Sonuçları	45
4.4 Hücre Kültürü Çalışmaları Sonuçları	47
4.4.1 Hücre Görüntüleme Çalışması Sonuçları	47
4.4.2 Biyoaffinite Çalışması Sonuçları.....	48
4.4.2.1 I-125 İşaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA'nın MCF-7 Hücrelerindeki Bağlanma Etkinliğinin Zamanla Değişimi	48
4.4.2.2 I-125 İşaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA'nın Caco-2 Hücrelerindeki Bağlanma Etkinliğinin Zamanla Değişimi	50
4.4.2.3 I-125 İşaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA'nın A-549 Hücrelerindeki Bağlanma Etkinliğinin Zamanla Değişimi	51

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
4.4.2.4 I-125 İşaretili SNA, Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA'nın MCF-7, Caco-2 ve A-549 Hücrelerindeki Bağlanma Etkinliğinin Karşılaştırılması	53
4.5 Tavşanlarda Görüntüleme Çalışması Sonuçları	55
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	60
KAYNAKLAR DİZİNİ	62
ÖZGEÇMİŞ	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Nanoparçacık boyutunun atomik, moleküler ve hücresel boyutlarla karşılaştırılması.....	5
2.2 Kuantum dotların boyuta bağlı renk değişimi	7
2.3 Farklı biyomoleküllerle konjuge edilmiş kuantum dot	8
2.4 Mannoz triflat	9
2.5 Sisteamin	9
2.6 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)	12
2.7 İnce tabaka kromatografisi (TLC)	13
2.8 Taramalı elektron mikroskopunun şematik gösterimi	15
2.9 Atomik kuvvet mikroskopunun şematik gösterimi	16
3.1 CdSe/CdS Kuantum dot nanoparçacıkların hazırlanma şeması	20
3.2 İodojen' in moleküler yapısı.....	22
3.3 A-549 hücreleri üzerindeki bağlanma etkinliğinin zamanla değişimi çalışması	27
3.4 Caco-2 hücreleri üzerindeki bağlanma etkinliğinin zamanla değişimi çalışması	28
3.5 Hücrelere uygulanacak besiyeri içerisinde I-125 işaretli örnekler	29
4.1 Mannoz triflat' a sisteamin bağlanma reaksiyonu.....	32

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.2 CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların mannoz triflat-sisteamin bileşiği ile konjugasyon reaksiyonu.....	32
4.3 Mannoz triflat-sisteamin konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların SNA ile bağlanma reaksiyonu.....	32
4.4 Mannoz triflat-sisteamin-SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların I-125 ile işaretlenme reaksiyonu	33
4.5 TLRC-1 banyosunda ¹²⁵ I-SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait TLRC kromatogramı	36
4.6 TLRC-1 banyosunda ¹²⁵ I-SNA' a ait TLRC kromatogramı	36
4.7 TLRC-1 banyosunda ¹²⁵ I' a ait TLRC kromatogramı	36
4.8 TLRC-1 banyosunda yükseltgenmiş ¹²⁵ I' a ait TLRC kromatogramı ...	37
4.9 TLRC-1 banyosunda ¹²⁵ I-MTS-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait TLRC kromatogramı	38
4.10 TLRC-1 banyosunda ¹²⁵ I-MTS-SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait TLRC kromatogramı	38
4.11 TLRC-2 banyosunda ¹²⁵ I-MTS-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait TLRC kromatogramı	39
4.12 TLRC-2 banyosunda ¹²⁵ I-MTS-SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait TLRC kromatogramı	39
4.13 CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait HPLC kromatogramı	40

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.14 MannoZ triflat-sisteamin konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait HPLC kromatogramı	40
4.15 SNA' a ait HPLC kromatogramı	41
4.16 SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait HPLC kromatogramı	41
4.17 CdSe/CdS kuantum dotların 25000 büyütmede SEM görüntüsü	42
4.18 CdSe/CdS kuantum dotların 80000 büyütmede SEM görüntüsü	42
4.19 CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların AFM görüntüsü	43
4.20 MannoZ triflat-sisteamin konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların AFM görüntüsü	44
4.21 CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların Floresans ve Absorbsiyon spektroskopisi sonucu	45
4.22 CdSe/CdS kuantum dotların 5X büyütmede Floresans mikroskobu görüntüsü	45
4.23 CdSe/CdS kuantum dotların 10X büyütmede Floresans mikroskobu görüntüsü	46
4.24 MTS konjuge CdSe/CdS kuantum dotların 5X büyütmede Floresans mikroskobu görüntüsü	46
4.25 MTS konjuge CdSe/CdS kuantum dotların 10X büyütmede Floresans mikroskobu görüntüsü	46

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.26 MTS konjuge CdSe/CdS kuantum dotların MCF-7 hücreleri üzerindeki görüntüsü.....	47
4.27 ¹²⁵ I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ¹²⁵ I' in MCF-7 hücrelerine 30, 60 ve 120. dakikalarda bağlanma oranları.....	48
4.28 ¹²⁵ I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ¹²⁵ I' in Caco-2 hücrelerine 30, 60 ve 120. dakikalarda bağlanma oranları.....	50
4.29 ¹²⁵ I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ¹²⁵ I' in A-549 hücrelerine 30, 60 ve 120. dakikalarda bağlanma oranları.....	52
4.30 ¹²⁵ I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ¹²⁵ I' in A-549, MCF-7 ve Caco-2 hücrelerine 30. dakikada bağlanma oranları.....	53
4.31 ¹²⁵ I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ¹²⁵ I' in A-549, MCF-7 ve Caco-2 hücrelerine 120. dakikada bağlanma oranları.....	53
4.32 ¹³¹ I işaretli SNA-CdSe/CdS kuantum dotların tavşanda 30.dakika ve 24.saat gama kamera görüntüleri	55
4.33 ¹³¹ I işaretli MTS-SNA-CdSe/CdS kuantum dotların tavşanda 30. dakika ve 24.saat gama kamera görüntüleri	56
4.34 ¹³¹ I işaretli MTS-CdSe/CdS kuantum dotların tavşanda 30.dakika ve 24.saat gama kamera görüntüleri	56

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.35 ¹³¹ I işaretli Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA örneklerinin 30. dakikada tavşanlardaki dağılıma oranları	57
4.36 ¹³¹ I işaretli Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA örneklerinin 24.saatte tavşanlardaki dağılıma oranları	57
4.37 ¹³¹ I işaretli Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA örneklerinin 0,5. saat ve 24. saat tavşanlarda karaciğer/kalp oranı	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
3.1	HPLC yönteminde uygulanan kromatografik koşullar	24
4.1	250 µg iodojen tüpü kullanılarak ¹²⁵ I ile işaretli bileşiklerin TLRC yöntemi ile R _f değerleri	35
4.2	250 µg iodojen tüpü kullanılarak ¹²⁵ I ile işaretli bileşiklerin TLRC yöntemi ile % Verim değerleri	35
4.3	¹²⁵ I ile işaretli bileşiklerin TLRC yöntemi ile R _f değerleri	37
4.4	¹²⁵ I ile işaretli bileşiklerin TLRC yöntemi ile % Verim değerleri	38
4.5	¹²⁵ I-Q-SNA, ¹²⁵ I-SNA, ¹²⁵ I-Q-MTS, ¹²⁵ I-Q-MTS-SNA ve ¹²⁵ I'in MCF-7 hücreleri üzerindeki % bağlanmanın zamanla değişimi	48
4.6	MCF-7 Hücrelerine Bağlanma Oranlarının Zamanla Değişimine Ait İstatistiksel Veriler	49
4.7	¹²⁵ I-Q-SNA, ¹²⁵ I-SNA, ¹²⁵ I-Q-MTS, ¹²⁵ I-Q-MTS-SNA ve ¹²⁵ I'in Caco-2 hücreleri üzerindeki % bağlanmanın zamanla değişimi	50
4.8	Caco-2 Hücrelerine Bağlanma Oranlarının Zamanla Değişimine Ait İstatistiksel Veriler	51
4.9	¹²⁵ I-Q-SNA, ¹²⁵ I-SNA, ¹²⁵ I-Q-MTS, ¹²⁵ I-Q-MTS-SNA ve ¹²⁵ I'in A-549 hücreleri üzerindeki % bağlanmanın zamanla değişimi	51
4.10	A-549 Hücrelerine Bağlanma Oranlarının Zamanla Değişimine Ait İstatistiksel Veriler	52
4.11	¹³¹ I işaretli Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA örneklerine ait 30. dakikada tavşanlardaki dağılım oranları	56

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
4.12	¹³¹ I işaretli Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA örneklerine ait 24. saat tavşanlardaki dağılım oranları	57
4.13	¹³¹ I işaretli Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA örneklerine ait 24. saat tavşanlardaki dağılım oranları	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
Q	: Kuantum Dot
MTS	: Mannoz triflat-Sisteamin
Rf	: İlerleme Mesafesi (Relative Front)
Rt	: Alıkonma Zamanı (Retention Time)
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
SF	: Serum Fizyolojik
EC	: Elektron yakalama
SNA	: Sambucus Nigra Agglutinin
EDC	: 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride
nm	: nanometre
µL	: mikrolitre
mg	: miligram
mL	: mililitre

1.GİRİŞ

Kanser önemi giderek artan bir sağlık ve yaşam sorunudur. Ne kadar erken teşhis edilebilirse, vücutta diğer organ veya dokulara yayılmadan önce tedavi edilebilme şansı o kadar yüksektir. Bu nedenle hem erken teşhisi hem de yan etkisi en az olan hedefe yönelmiş terapi yöntemlerinin geliştirilmesi için yoğun araştırmalar yapılmaktadır.

Son yıllarda nanobiyoteknoloji hücrelerde kansere neden olan biyolojik proseste, hücreleri teşhis edip tedavi etmede yeni ve farklı seçenekler sunar. Kuantum dotlar, boyuta bağlı gözlenen yüksek lüminesans özelliği ve bu lüminesansın kararlılığı, hazırlama kolaylıkları, düşük toksisite, suda çözülebilir olmaları ve ayrıca biyokonjugasyona olan yatkınlıklarından dolayı diagnostik uygulamalar ve biyolojik görüntüleme çalışmaları için önemli bir alternatif olmaktadır. Bu parçacıkların yüzeyleri DNA, peptidler, proteinler ve diğer küçük ligandlar ile yeni nesil boyuta bağlı optik özellikli fonksiyonel taşıyıcılar haline getirilebilir. Bu parçacıklarla görüntüleme için uygun ajanlar tasarlanması mümkün olabileceği gibi, kanser hücrelerine spesifik olarak hedeflenmiş terapi ajanlarının elde edilmesi de mümkün olabilir.

Deng ve arkadaşları (Deng et al., 2006) yüksek kaliteli, suda çözülebilir CdSe ve CdSe/CdS nanokristalleri sentezlemek için kolay hazırlanabilir reaktiflerin ve basit malzemelerin kullanıldığı yeni bir yöntem geliştirmiştir. Bir başka çalışmada da kor/kabuk CdSe/Zn_{1-x}Mn_xS nanopartiküller optik ve manyetik rezonans (MR) görüntüleme tekniklerinde kullanılmak üzere sentezlenmiştir (Wang et al., 2007). Yine bir başka çalışmada paramanyetik ve pegile lipidlerle kaplı CdSe/ZnS kuantum dotlar MRI tekniklerinde kullanılmak için sentezlenmiştir (Mulder et al., 2006).

Deutscher ve arkadaşları (Deutscher et al., 2009) In-111 işaretli galectin-3'ü prostat kanserinde görüntüleme ajanı olarak kullanmışlardır. Nude mice'lar üzerinde aldıkları görüntülerle tümör hücrelerinin yerini takip edebilmişlerdir.

Babu ve arkadaşlarının çalışmasında bir tiyol grubu içeren konjugat kullanılarak tek basamakta neoglukokonjugatlar sentezlenmiştir. Sulu çözeltideki CdSe-ZnS kuantum dotların çözünebilirliği ve stabilizasyonu karbohidratlarla fonksiyonelleştirilmesi ile açıklanmıştır. Yüzeylerine laktoz, melibioz ve maltotrioz konjuge edilmiş kuantum dotlar (Q) lektin dedeksiyonu için

kullanılmıştır. Bu yolla sentezlenen şeker içeren kuantum dotlar, transmisyon elektron mikroskobu (TEM), floresans, ve absorpsiyon spektroskopisi ile karakterize edilmiştir (Babu et al., 2007).

Kuantum dot nanoparçacıkların lektin ile modifikasyonları ise bu parçacıkların hücreler arası reseptör ligand ilişkilerinin incelenmesinde immüne tanıma reaksiyonlarının incelenmesinde yeni uygulama alanları açılmasında yararlı olabilir çünkü lektinler tersinir olarak spesifik tanıma reaksiyonlarında kullanılabilen glukoprotein molekülleridir.

Wu ve ekibi (Wu et al., 2003) kuantum dotları, organik bir boya olan Alexa 488 ile karşılaştırmış ve kuantum dotların floresans kararlılığının yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu özellikleri organik floroforlara göre oldukça avantaj sağlamaktadır ve canlı denemelerinde hedef dokunun uzun süre görüntülenmesine imkan verdiği için büyük önem taşımaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda belirli boyuta sahip nanopartiküllerin kanser hücrelerine normal hücrelere kıyasla daha fazla spesifiklik gösterdiği belirlenmiştir. Bu parçacıkların terapi radyonüklidleri ile işaretlenebilmesi halinde terapi için kullanım alanları da doğabilecektir.

Literatürde iodojen metodu kullanılarak ^{131}I , ^{123}I ve ^{125}I ile protein, peptid, ve antikor bileşiklerin işaretlenmesiyle ilgili birçok çalışma mevcuttur (Sun et al., 2007; Foulon et al., 2000). Lektinler ile ilgili ise Barrientos ve arkadaşları, V.album agglutinin isimli lektini iodojen yöntemi kullanarak ^{125}I ile işaretlemiş ve artan laktoz konsantrasyonunun altın nanoparçacıklara takılan lektinlerin reseptör ligand etkileşimini arttırabileceğini rapor etmişlerdir (Barrientos et al., 2009).

Kuantum dot nanoparçacıklar ile ilgili çok sayıdaki çalışmanın sonunda son yıllarda dual görüntüleme veya hedeflenmiş terapi amaçlı bazı radyonüklid işaretli kuantum dotlar da hazırlanmıştır. Örneğin; Schipper ve arkadaşları Cu-64 işaretli CdSe kuantum dotların mikroPETCT ile karaciğer metastazlarının görüntülenmesinde kullanılabilirliğini incelemişlerdir (Schipper ML et al., 2007). Lektinlerin kanser hücre yüzeylerinde normal hücrelerden farklı olduğuna dair literatürde mevcut bazı bilgiler bulunduğundan, kuantum dot bağlı lektinlerin radyonüklid takılması halinde Nükleer Tıp alanında bazı kanserlerin görüntülenmesine ve tedavisine önemli bir katkı sağlayabilecektir. Türkiye’ de ise bu konu üzerine herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, kanser teşhisinde kullanılacak, yüksek floresans kararlılığına sahip CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların sentezlenmesi, sentezlenen bu parçacıkların hedefe spesifikliğini artırılması amacıyla karbohidratlar ve lektinler ile konjuge edilmesi, $^{125/131}\text{I}$ ile işaretlenerek kanser görüntüleme ajanı olarak biyoaffinitelerinin *in vivo* ve *in vitro* olarak incelenmesidir. Bu çalışmada lektinlerin iyodinasyona yatkınlığı ve ^{125}I ve ^{131}I 'ün radyonüklid olarak terapi potansiyelleri nedeniyle bu radyonüklidler kullanılmıştır. Bu şekilde, kanserli bölgenin erken evrede teşhis edilmesine imkan verecek ve uzun süreli, hassas görüntü alınmasını sağlayacak ve bunun yanı sıra vücutta diğer organ veya dokulara yayılmadan tedavi edilebilme şansını da arttıracak yeni optik özellikli taşıyıcı oluşturulmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kanser

Kanser, vücut hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde üreyerek komşu dokuları işgal etmesi (invazyon) veya kaynağını aldığı organdan daha uzak bir yere kan-lenf yoluyla yayılması (metastaz) ile oluşan bir hastalıktır.

Kanser, kan ve lenfotik sistem aracılığı ile vücudun diğer bölgelerine dağılarak damar yoluyla beslenir. Normal hücrelerin büyüme yeteneği sınırlı olup bazen büyümedeki bu sınırlanma yeteneği kaybolur ve sınırsız büyüyüp, çoğalan hücreler topluluğu oluşur. Buna “tümörleşme” denir. Tümör benign (iyi huylu) ve manign (kötü huylu) tümör olmak üzere iki kısımda incelenir.

İyi huylu tümörler; kanser değildir. Başka bölgelere yayılmazlar ve metastaz yapma yetenekleri yoktur. Oluştukları bölgede basınç yada tıkanıklık yaratarak organizmaya zarar verirler.

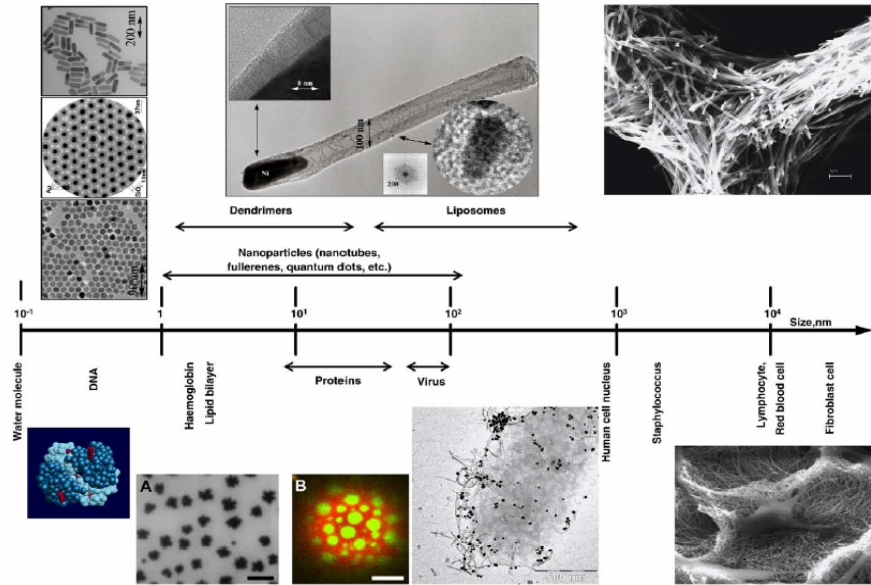
Kötü huylu tümörler; ise kanser olarak adlandırılır. Komşu organ ve dokulara yayılırlar, kemik doku ile karşılaştıklarında onu dahi eritirler (rezorbsiyon). Sınırları belirsizdir. Malign tümörü oluşturan hücreler o kadar farklılaşmışlardır ki orjinlerinin ne olduğunu söylemek imkansızdır. Kanser hücrelerini normal hücrelerden ayıran en önemli özellikler; proliferatif büyüme, sinyal oluşumunda kendi kendine yetme, büyümeyi inhibe eden sinyallere karşı duyarsızlık, apoptozdan kaçma, sınırsız replikatif potansiyel kazanma, anjiogenezisi devam ettirebilme, invazyon ve metastazın indüklenbilmesidir.

Ülkemizde her yıl binlerce insan kanser yüzünden hayatını kaybetmektedir. Kanser ölüm nedeni olarak kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir. Yurdumuzda en sık görülen kanserler erkeklerde akciğer, prostat, kalın barsak, rektum, mide ve pankreas; kadınlarda meme, akciğer, kalın barsak, rektum, serviks, over, mide ve pankreas kanserleri olarak sıralanabilir. Bu nedenle kanserin erken tanı ve tedavisi büyük önem taşımaktadır.

2.2 Nanobiyoteknoloji

Nanobiyoteknoloji, biyolojik organizmalarda nanoölçekli aletlerin kullanılmasıyla organizmanın yaşam kalitesini arttırmayı amaçlamaktadır. İnsan vücudaki patojenlerin tanımlanması ve yok edilmesi, hasta hücrelere ilacın ulaştırılması, kanser hücrelerinin nanoaletler kullanılarak önlenmesi ve tedavi edilmesi gibi çalışmaları kapsar.

Nanoölçekli aletler insan hücrelerinden 100-10000 kat kadar daha küçüktür. Şekil 2.1. 50 nm'den küçük nanoölçüm araçları hücrenin birçoğuna kolayca girebilir. 20 nm'den daha küçük olanlar ise dolaşım esnasında kan damarları dışına çıkabilir. Vücudun birçok bölgesine erişiminden dolayı hastalığı bulma ve tedavi etme potansiyeline sahiptir (Choi et al., 2007). Biyolojik yöntemlerin sonuçlarına göre, kansere ulaştırmak, hücrelerin içinde bulunmak, nanoteknoloji araçlarının bir zenginliğini göstermektedir. Nanoteknoloji, hücrelerde kansere neden olan biyolojik proseste, hücreleri teşhis edip tedavi etmede yeni ve farklı seçenekler sunar (Gordon et al., 2007).



Şekil 2.1 Nanoparçacık boyutunun atomik, moleküler ve hücresel boyutlarla karşılaştırılması.

Bugün, kanser ilişkili nanoteknoloji iki ana alan üzerinde ilerlemektedir: (i) laboratuvar bazlı tanılayıcılar. (ii) *in vivo* tanılayıcılar ve terapötikler.

Nanoboyut içinde yer alan daha iyi ve son derece etkili terapötik ajanların sayısındaki çarpıcı artış kanser terapisinde radikal bir değişim yaratma potansiyeline sahiptir. Bu örnek içinde yer alan nanoparçacıklar, kötü bir lezyonun moleküler görüntülenmesinde kullanılmak üzere kanser hücrelerini hedeflemektedir. Nanoparçacıkların büyük miktarları vücuda güvenli bir şekilde enjekte edilir ve tercih edilen kanser hücrelerine bağlanır. Lezyonun anatomik çevresi tanımlanır ve lezyon bu şekilde görünür hale getirilir.

Nanoparçacıklar bize hücreleri ve molekülleri görebilme yeteneğini sağlar. Aksi takdirde biz geleneksel görüntüleme yoluyla hücreleri ve molekülleri dedekte edemeyiz. Hücre içinde olanları öğrenebilme yeteneği hastalıkların tanısı ve tedavisindeki başarıda oldukça önemlidir (Jain, 2005).

Nanoparçacık teknolojisinin kanser tedavisinde oldukça faydalı olduğu ispat edilebilir. Birçok biyolojik, biyofizik ve medikal engelleri yenmekte etkili ve hedefli ilaç dağılımına izin vermektedir.

2.3 Kuantum Dot Nanoparçacıklar

Kuantum dotlar, yarı iletkenler olarak bilinen malzeme sınıfının çok özel ve de benzersiz bir alt sınıfını oluştururlar. 2-12 nm (10 ile 50 atom çapında) boyutlara sahip bu yarı iletken nanoparçacıklar bilime ve teknolojiye daha önce hiç görülmemiş özellikler sunar. Bu atomik yapıları nedeniyle bilinen klasik yığın haldeki yarı iletkenler ve de klasik atom veya moleküller arasında bir yerde bulunurlar. Aynı nedenden dolayı nano-kristaller olarak bilinen kuantum dot nanoparçacıkları yarı iletkenlerin gösterdiği özellikleri göstermekle beraber bu özelliklere ek olarak daha üstün nitelikleri de sergiler.

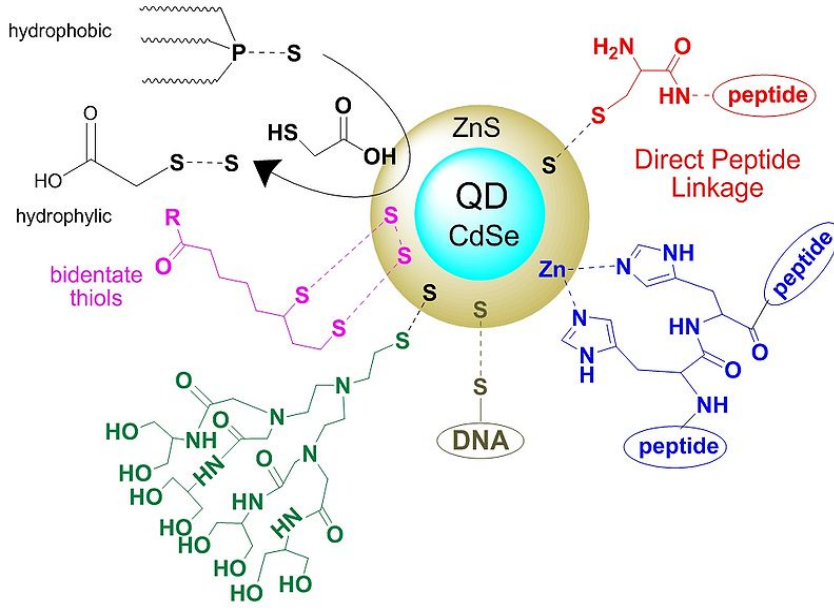
En dikkat çeken özellikleride morötesi (UV) ışıkla aydınlatıldığında Şekil 2.2'de görüldüğü gibi boyutlarına bağlı olarak farklı renklerde ışımaya yapmalarıdır (Chan et al., 2002). Örneğin; 9-10 nm çapındaki kuantum dotlar kırmızı renkte ışımaya yaparken 3 nm çapındaki kuantum dotlar mavi renkte ışımaya yapmaktadır (Dabbousi et al., 1997). Kuantum dotlar, hem optik floresans mikroskopisi hem de magnetik rezonans görüntüleme (MRI) dedekte edebilme (Poole and Owens, 2003), tek dalga boyu uyartım, büyüklüğe bağlı olarak dar yayılım, ayarlanabilir

soğurma ve yayılım dalga boyları ve şiddeti, düşük foto sönümlenme ve yüksek lüminesans gibi üstün optiksel ve elektronik özelliklerinden dolayı biyo-etiketlemede tercih edilmektedirler (Galian et al., 2009). Kuantum dotların floresansındaki yüksek kararlılık (Wu et al. 2003) organik floroforlara göre oldukça avantaj sağlamaktadır (Portakal, 2008) ve canlı denemelerinde hedef dokunun uzun süre görüntülenmesine imkan verdiği için büyük önem taşımaktadır.



Şekil 2.2 Kuantum dotların boyuta bağlı renk değişimi.

Aynı zamanda kolay yüzey kimyasına sahip kuantum dotlar hücrel kanser hedeflemeleri, biyolojik ve biomedikal uygulamalar için nano ölçekte görüntüleme ve algılama imkanı sağlamaktadır. Bu tip nanokristallerin yüzeyi Şekil 2.3'de görüldüğü gibi gerek biyolojik, gerekse başka yarıiletken veya yalıtkan malzemelerle kaplanabilmektedir. Hedef hücre, doku veya organa yönelik görüntüleme yapabilmek için biyoaktif moleküllerle (örn; antikor) yüzey modifikasyonu yapılan kuantum dotlar (Jayagopal et al., 2007) istenen bölgeye hedeflenmekte ve bunun sonunda çok hassas görüntüler elde edilmektedir.



Şekil 2.3 Farklı biyomoleküllerle konjuge edilmiş kuantum dot.

Son yıllarda kanser teşhis ve tedavisinde kuantum dotların kullanımı ilgi çekmektedir. Kanseri hücrelerine hedeflenebilmesi ve istenilen terapötiklerin kuantum dotlara konjuge edilebilmesi kanserli hücrelerin çok erken evrede görüntülenmesini ve tedavisini mümkün kılmaktadır (Vashist et al., 2006).

Kuantum dotları bunların yanı sıra bir çok farklı kullanım alanına da sahiptir. Kuantum dotların elektronik devrelerde kullanılmasıyla daha yüksek kapasiteye sahip ve daha hızlı bilgi transferini mümkün kılan bellekler tasarlanmıştır. Bu belleklerle bilgi transferi yaklaşık 100 kat daha hızlıdır. Kuantum dotlarla farklı tipte ışık emisyon diyotları (LED), yarı iletken lazerler, fotodetektörler ve optik modülatör gibi daha verimli ve işlevsel optoelektronik aygıtlar tasarlamak da mümkündür.

2.4 Lektin

Lektinler, Aglutinin, fitohemaglutinin, fitoaglutinin, ve protektin gibi en az iki karbohidrat bağlama bölgesine sahip, immün kökenli olmayan, bazı hücrelerin bir araya toplanmasına sebep olan, glikokonjugatları çöktüren, çeşitli bitki ve hayvanlardan elde edilmiş protein ya da glikoprotein molekülleridir.

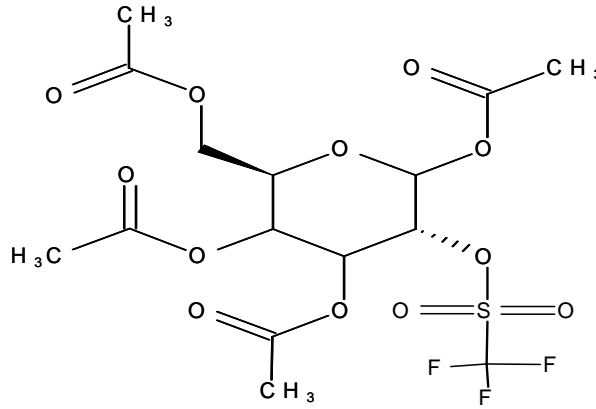
O kadar spesifiktirler ki hücre yüzeylerindeki değişik monosakkarit ve oligosakkarit yapılarında ayırım yaparlar. Buda;

- Bakteriler, hücre yüzeylerine gelip konuk hücreyi enfekte edeceği zaman,
- Lenfositlerin kan damarlarına yapışık durumdayken, bulunduğu yerden ayrılıp yakınındaki bir enfeksiyona karşı savaşacağı zaman,
- Kansere sebep olan tümör hücrelerinin kan damarları çeperlerine yapışıp metastaz yapacağı zaman geçerli olur.

Sambucus nigra agglutinin (SNA) lektini, Sambucus Nigra kabuğundan izole edilmiştir. SNA lektin α (2-6) bağla galaktoza bağlı terminal sialik asitî tanır ve daha az ölçüde, α (2-3) bağla galaktoza bağlı terminal sialik asitî tanır.

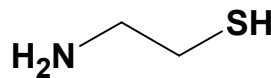
2.5 Mannoz triflat ve Sisteamin

Mannoz triflat; 1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-2-*O*-trifluoromethane sulfonyl-beta-*D*-mannopyranose olarak da bilinir. Prekürsör bir şeker molekülüdür. Molekül formülü: $C_{15}H_{19}F_3O_{12}S$, Molekül ağırlığı: 480,37g/mol, Erime noktası: 119-122 °C' dir.



Şekil 2.4 Mannoz triflat.

Sisteamin; Sistein aminoasitinin yıkım ürünüdür. Bir tiyol bileşiği olan bu molekül serbest radikalleri bağlayarak etkisizleştirir ve radyoprotektif etkinlik gösterir. β -Mercaptoethylamine, Thioethanolamine, 2-Aminoethanethiol, 2-Mercaptoethylamine, Decarboxycysteine, olarak da bilinir. Molekül formülü: $NH_2CH_2CH_2SH$, Molekül ağırlığı: 77,15 g/mol şeklindedir.



Şekil 2.5 Sisteamin.

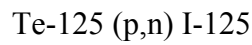
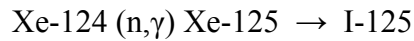
2.6 Radyoaktif İyot İzotopları

İyot; periyodik tabloda halojenler olarak bilinen VIIA gurubunun bir üyesidir. I simgesiyle gösterilir. Doğal iyodun atom numarası 53, nötron sayısı 74 ve kütle numarası 127 dir. Yapay iyot izotopları nötron sayısı 74 den az veya fazla olacak şekilde yapılır. İyodun 115 den 141 kütle numarasına kadar 37 radyoizotopu vardır. Nükleer tıp çalışmaları için iyodun en uygun radyoizotopları I-123, I-125 ve I-131 dir (Yurt, 1998; Kowlsky and Perry, 1987).

İyot-125 çekirdeği 53 proton ve 72 nötrona sahiptir. Nötron sayısı I-127'den 2 nötron daha azdır. I-125 nötron eksikliği nedeniyle elektron yakalama (EC) bozunumuna uğrar ve yarı kararlı Te-125m'e dönüşür. Bu bozunumda geçiş enerjisi 178 keV dir. 178 keV enerjiye sahip olan nötrino, uyarılmış Te-125'in geçişinde 143 keV'lik enerji taşır ve Te-125'in temel düzeyine geçişinde 35 keV'lik γ ışını salınır.

I-125'in yarı ömrü uzun olması ve düşük gama ışınması nedeniyle radyoimmunoassay gibi *in vitro* çalışmalar için uygun bir radyonüklittir. Bu sebeple I-125, I-131'e göre radyoişaretleme kullanımı için daha uygundur. Ayrıca β radyasyonunun olmaması nedeniyle de radyolitik dekompozisyonu azdır (Yurt, 1998).

Reaktörde üretilir ve üretim metodları aşağıdaki reaksiyonlarda olduğu gibidir;



İyot-131'in nötron sayısı I-127'den 4 nötron fazladır. I-131 izotopu nötron bolluğu sebebiyle negatif beta bozunumu yapar ve kararlı Xe-131 izotopu oluşur. I-131 ve Xe-131' in temel enerji düzeyi arasındaki değişim enerjisi 971 keV dir. I-131'in bozunumunda birkaç β geçişi mevcuttur. Maksimum enerjisi 607 keV olan β ışını salınır ve bu enerji β ve ν^- arasında paylaşılır ve 364 keV γ ışını olarak uyarılmış Xe-131 çekirdeğinin temel düzeye geçişinde salınır. γ ışınlarının enerjisi yüksek olması sebebiyle görüntüleme yüksek enerjili kolimatörler kullanılır. İyi bir bolluğa (% 82) sahip olan 364 keV'lik γ - ışını dokuya etkili bir şekilde geçer fakat kalınlığı yarım inch olan NaI kristali ile (% 23) yetersiz bir şekilde

durdurulmaktadır. I-131 β ışması nedeniyle terapi için uygun bir radyonüklittir. I-131'in yarı ömrü 8 gündür. Bu süre kullanılmak istenen radyofarmasötiği ticari olarak hazırlamak için uygun bir raf ömrüdür. I-131 β salınımından doğan yüksek radyasyon dozundan dolayı görüntüleme için kullanılmaz. I-131'in avantajları şu şekilde sıralanabilir; ekonomiktir, 364 keV'lik γ radyasyonu ideal bir görüntüleme radyonüklidine göre yüksek olmakla birlikte organ görüntüleme için kullanılabilir ve γ ışınları pahalı olmayan sintilasyon dedektörleri ile dedekte edilebilir (Yurt, 1998; Kowlsky and Perry, 1987).

U-235'in fisyonundan aşağıdaki reaksiyona göre reaktörde üretilir;

$\text{Te-130} (n,\gamma) \text{Te-131} \rightarrow \text{I-131}$ (Kahn and Kleinberg, 1977; Medine, 2008)

2.7 Analiz ve Kalite Kontrol İşlemlerinde Kullanılan Kromatografik Yöntemler

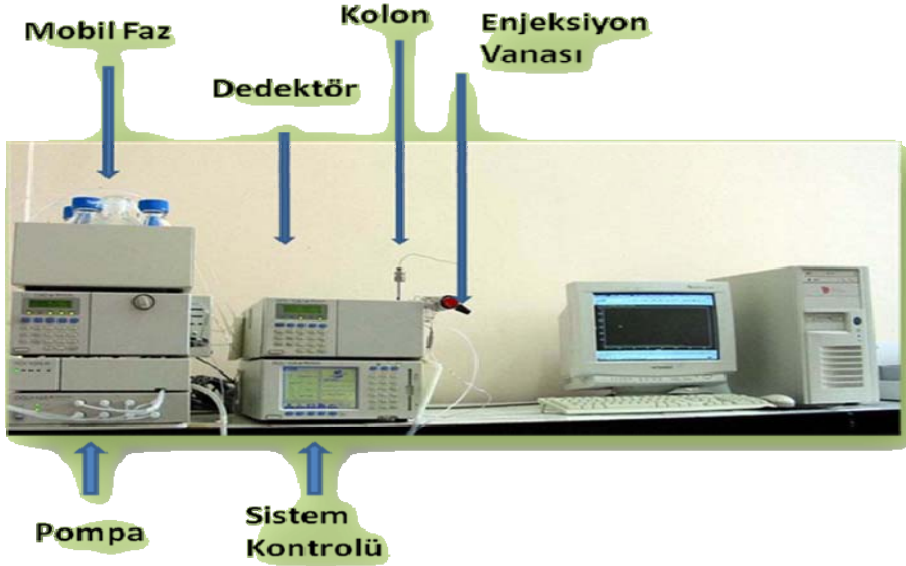
2.7.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Kromatografi, çeşitli maddelerin hareketli bir faz yardımıyla, sabit bir faz üzerinde değişik hızlarla hareket etmeleri veya sürüklenmeleri esasına dayanır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) sıvı fazda çözünebilen bir kimyasal karışımının kolay ve hızlı bir şekilde bileşenlerine ayrılabilirdiği oldukça duyarlı bir kromatografik yöntemdir (Macherey-Nagel, 2006).

Yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (HPLC) hareketli faz bir sıvı durgun faz ise küçük parçacıklardan oluşan bir katıdır. Standart HPLC donanımı 5 bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenler; hareketli faz kapları, pompa, enjeksiyon sistemi, kolon (sabit faz) ve dedektör' den meydana gelir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) uygulamalarında kullanılan kolonlar daha çok 30-300 mm uzunluğa sahip yaklaşık 3-5 mm iç çapında metalik boru şeklinde olup iç yüzeyleri çok değişik özelliklerde kaplama materyalleri ile kaplanarak, analizi yapılacak madde grupları için modifiye edilebilmektedir. Sıvı kromatografisinde en çok kullanılan dedektör tipi UV absorbans dedektörleridir. Bu dedektörler ile 190-600 nm aralığında analiz mümkün olmaktadır. Kullanılan diğer dedektör türleri içinde kırılma indisi RI, floresans FL, elektrokimyasal EC ve kütle spektrometresi MS dedektörleri bulunmaktadır.

Kromatografik analiz süreci çözücüde çözülmüş örneğin sisteme enjekte edilmesi ile başlar. Hareketli (sürekli) faz ile birlikte kolona pompalanan örnek, kolon içinde bileşenlerine ayrılmaya başlar. Her bileşenin gönderdiği sinyaller dedektör tarafından kaydedilir. Dedektör tarafından kaydedilen ve bilgisayara aktarılan sinyallerin tamamına kromatogram adı verilir.

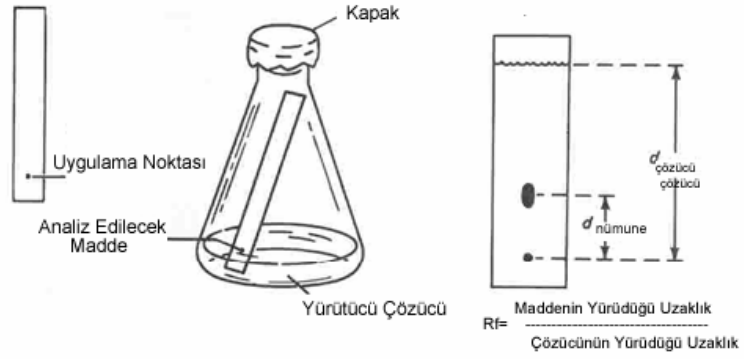
HPLC metodu radyofarmasötiklerin kalite kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Belirli koşullarda verilen maddelerin kolonda alıkonma süreleri (R_t) kimyasal özellikleri nedeni ile birbirlerinden farklılık göstermesi ile ayırım gerçekleştirilmektedir (Yurt, 2008; Theobald, 1989; Gündüz, 2002; Ahuja, 2006).



Şekil 2.6 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC).

2.7.2 İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)

İnce tabaka kromatografisi (TLC), en çok kullanılan kromatografik teknik olup bir katı - sıvı adsorpsiyon kromatografisidir. Destek madde üzerine homojen olarak kaplanmış bir adsorban tabakası üzerine, mikrolitre (μL) düzeyinde uygulanan madde karışımlarının uygun çözücü veya çözücü karışımları yardımıyla ayrılmasıdır. TLC plakaları, destek maddesi (alüminyum, plastik, cam gibi) üzerine bir adsorbanın (selüloz, silikajel ve alüminyum oksit gibi maddeler) kaplanmasıyla oluşturulmuş plakalardır. Sabit faz, çeşitli boyutlardaki destek materyal üstüne, ince bir tabaka halinde sıvanmış katı adsorban maddedir. Bu yöntemde hareketli fazın sabit faz üzerinden ilerleyişi, aşağıdan yukarı doğru olur. Çözücü kılcallık etkisi ile içerisine daldırılan TLC plakası üzerinde yürür ve plakanın alt kesimlerine bir kapiler ile önceden damlatılmış olan karışımı da farklı hızlarla yukarıya sürükler. Ayırım bu şekilde sağlanmış olur. Yürüme hızı maddenin, katı fazın ve çözücünün polaritesine bağlıdır. Polar maddeler, çözücü / adsorban madde ikilisinden daha polar olan ile daha sıkı etkileşim gösterirler. Çözücünün ilerleme seviyesi plaka boyunun yaklaşık % 90' ına ulaştığında, kromatogram çözücünden çıkarılır. Başlangıç çizgisi ile çözücünün son seviyesi arasındaki mesafe ölçülür (Skoog, 1998; Gündüz, 2002; Grillini, 2006).



Şekil 2.7 İnce tabaka kromatografisi (TLC).

Her bir bileşenin taşınım mesafesi R_f (relative front) değeriyle ifade edilir. Maddenin sürüklendiği noktanın başlangıç noktasına uzaklığının toplam yürütme mesafesine oranına R_f değeri (alınkonma değeri) denir (Şensoy, 2007; Zor, 2000). Bu değer; her madde için adsorban, destek madde ve çözücüye bağlı olarak ayırt edici bir özelliktir (Theobald, 1989).

İnce tabaka Kromatografisi kimyasal bileşiklerin sınıflandırılmasında etkili, çabuk, hızlı ve ucuz ayırma yöntemlerinden birisidir. Küçük miktarlarda solvent ve örnek kullanıldığı için ucuz bir yöntemdir. Diğer kromatografi yöntemlerine göre düşük cihaz maliyeti, analiz süresinin kısa olması ve aynı anda 20 örneği ayırabilme kabiliyeti gibi bazı avantajları sebebiyle ince tabaka kromatografisi analitik, bio-medikal ve farmasötik alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Djozan et al., 2008; Johnson et al., 2007; Soponar et al., 2008).

2.8 Kuantum Dotların Karakterizasyonunda Kullanılan Yöntemler

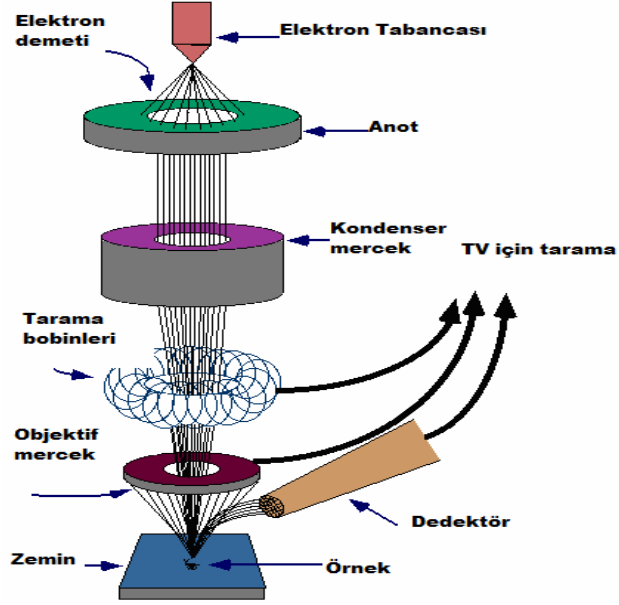
2.8.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

SEM’de görüntü, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan çeşitli etkileşimlerin dedektör sistemleri ile tespit edilmesi ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir katot ışınları topunun ekranına aktarılmasıyla elde edilir. Modern sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir.

Gerek ayırım gücü (resolution), gerek odak derinliği (depth of focus) gerekse görüntü ve analizi birleştirebilme özelliği, taramalı elektron mikroskobunun kullanım alanını genişletmektedir. Örneğin 1000X büyütmede optik mikroskobun odak derinliği yalnızca 0.1 μm iken taramalı elektron mikroskobunun odak derinliği 30 μm ’dir. Şekil 2.8’ de gösterildiği gibi Taramalı Elektron Mikroskobu optik kolon, numune hücresi ve görüntüleme sistemi olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır.

Optik kolon kısmında; elektron demetinin kaynağı olan elektron tabancası, elektronları numuneye doğru hızlandırmak için yüksek gerilimin uygulandığı anot plakası, ince elektron demeti elde etmek için kondenser mercekleri, demeti numune üzerinde odaklamak için objektif merceği, bu merceğe bağlı çeşitli çapta apatürler ve elektron demetinin numune yüzeyini taraması için tarama bobinleri yer almaktadır. Mercek sistemleri elektromanyetik alan ile elektron demetini inceltmekte veya numune üzerine odaklamaktadır. Tüm optik kolon ve numune 10^{-4} Pa gibi bir vakumda tutulmaktadır.

Görüntü sisteminde, elektron demeti ile numune girişimi sonucunda oluşan çeşitli elektron ve ışınları toplayan dedektörler, bunların sinyal çoğaltıcıları ve numune yüzeyinde elektron demetini görüntü ekranıyla senkronize tarayan manyetik bobinler bulunmaktadır.

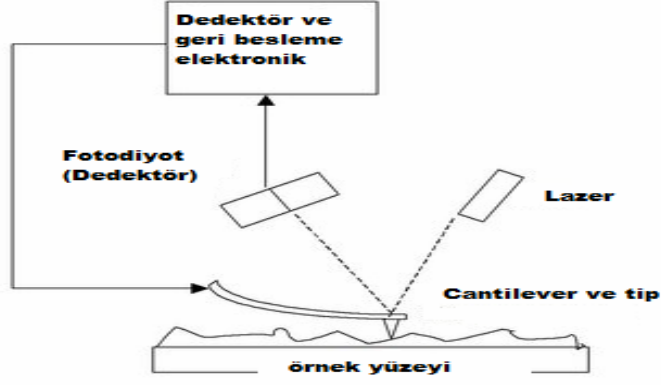


Şekil 2.8 Taramalı elektron mikroskobunun şematik gösterimi.

2.8.2 Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)

Atomik kuvvet Mikroskobu, sıvı ya da katı örneklerin yüzey topografisini nanometre (nm) seviyesinde görüntüleyebilen ve moleküller arası kuvvetleri (nN, pN) ölçebilen bir sistemdir. AFM' nin şematik gösterimi Şekil 2.9' da verilmiştir. AFM iğne örnek üzerinde hareket eder ve iğne-örnek arasındaki itme ve çekme kuvvetlerini ölçer. İğne cantilever denilen yaya tutturulmuştur. Lazer kaynağından gelip cantileverden yansıyan ışın pozisyona duyarlı fotodetektöre gelir. İki fotodiyotun sinyali arasındaki fark lazer spotunun pozisyonunu belirler. Bu cantileverin yükseklik bilgisi bilgisayara gönderilip x ve y pozisyonuna karşı kaydedilir ve 3 boyutlu veri kullanılarak topografik grafik görünüm elde edilir. Atomik kuvvet mikroskoplarında;

- Cantilever çok esnek ve malzemeye uygun olmalıdır.
- İğneler yeterince sivri olmalıdır.
- İğne-örnek pozisyonlaması yüksek çözünürlükte olmalıdır.
- Güçlü bir geri döngü olmalıdır.
- Fotodetektör duyarlı olmalıdır.



Şekil 2.9 Atomik kuvvet mikroskobunun şematik gösterimi.

Özellikleri ve Kullanım Alanları ;

- Hassas bir iğnenin yüzeyi taramasıyla, yüzeyin yüksek çözünürlüklü 3d görüntüsünü verir.
- Örneğin, iletken olma koşulu yoktur.
- Örnek hazırlama ve kullanım kolaylığı ve kapladığı hacim ile SEM'e alternatif bir mikroskobik tekniktir.
- Hava, sıvı, vakum ortamlarında görüntüleme yapabilir.
- Biyolojik örnekler, kaplamalar, seramikler, kompozitler, camlar, membranlar, metaller, polimerler ve yarıiletkenler gibi materyallerin yüzeyleri ayrıntılı görüntülenebilir ve elektriksel yük, manyetiklik, adhesif, hidrofilik davranış gibi çeşitli özellikleri belirlenebilir.
- İğne ucuna immobilizasyon ile moleküller arası çekim kuvvetlerinin ölçülmesi ve moleküler sensör çalışmaları gerçekleştirilebilir (Doğan, 2001; Ülgen, 2002).

2.8.3 Floresans Mikroskobu

Bazı maddeler dalga boyu kısa, yüksek enerjili ışınlarla aydınlatılırlarsa daha büyük dalga boylarında ışınlar salarlar. Bu olaya **floresans** denir. Bu floresans bazen canlı bir yapının (Riboflavin, Noradrenalin) veya parçacığın (Kuantum dot) kendi özelliğidir. Buna **doğal floresans** denir. Ya da floresans özelliği olan boyalar dokuya çöktürülür. Buna da **yapay floresans** adı verilir. Ultraviyole ışık veren kaynağın önüne normal ışığı geçirmeyen, sadece ultraviyole ışığın geçişine izin veren filtreler konur. Oluşacak floresans karanlık alanda incelenir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

3.1.1 Kullanılan Kimyasallar

- Selenyum tetra klorür (Sigma)
- Sodyumborhidrür (NaBH_4) (Sigma)
- Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Merck)
- Hidroklorikasit (HCl) (Merck)
- Sülfürik asit (H_2SO_4) (Merck)
- Sodyum sülfür (Na_2S) (Sigma)
- Kadmiyum asetat ($\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Sigma)
- Trisodyumsitratdihidrat (Sigma)
- Piridin (Merck)
- Ph =9 Tris-HCl Tamponu
- 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC)
- SNA (Sambucus Nigra Agglutinin, Elderberry ,Neu5Ac α 2-6Gal1(NAc)-R)
- İodojen (1,3,4,6-tetrakloro-3 α ,6 α -difenilglukoril (Sigma)
- Aqua-OH 40-8 kolon (Nucleogel)
- Serum Fizyolojik (SF) (% 0.9 NaCl çözeltisi) (Eczacıbaşı-Baxter H.Ü.San. ve Tic. A.Ş)
- Mannoz triflat (Fluka)
- Sisteamin (2-aminoetanetiyol) (Sigma)
- Sodyumsiyanoborhidrür (NaCNBH_3) (Fluka)
- Diklorometan (CH_2Cl_2) (Merck)
- Dimetil formamid (DMF) ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$) (Merck)
- Asetonitril (CH_3CN) (Merck)
- N-bütanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$) (Merck)
- Asetik asit (CH_3COOH) (Merck)
- İzopropil alkol ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$) (Merck)

- Amonyak (NH₃) (Merck)
- Potasyum karbonat (K₂CO₃) (Fluka)
- PBS (Bio.Ind.)
- Caco-2 kolon (adenokarsinoma) epiteli (American Type Culture Collection, Rockville, MD, ABD)
- MCF-7 meme (adenokarsinoma) epiteli (American Type Culture Collection, Rockville, MD, ABD)
- Akciğer-549 (adenokarsinoma) epiteli (Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü)
- Min. Essential Medium (MEM Eagle) (minimum essential medium eagle) (Bio.Ind.)
- Ripa (Sigma)
- 1,2,4-Trimetilbenzen (LSC-cocktail) (Perkin Emler)
- İyot-125 (I-125) (Institute of isotopes Co., Ltd., Budapest)
- İyot-131 (I-131) (E. Ü. Nükleer Tıp Anabilim Dalı)
- ITLC-SG Silika kaplı plastik şeritler (Merck-5554)
- Argon gazı (Habaş)

3.1.2 Kullanılan Cihazlar

- HPLC Shimadzu (LC-10Atvp quaterner pompalı, SPD-10AV UV dedektörlü, FRC-10A fraksiyonlama kollektörü) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- RadyoTLC (Bioscan 2000)
- TLC küvetleri (Sigma) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Su banyosu Nüve BM 302 (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- UV lamba (G15T8 15W Germicidal Lamp UV-C) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- SEM (Scanning electron microscopy) (Phillips XL-30 S FEG) (İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü)
- AFM (Q-Scope 250 Scanning Probe Microscope Ambios Tech., UK)

- Floresan Spektroskopu (Fluoromax-4 spectrofluorometer HORIBA JOBIN YVON EDISON, NJ USA)
- Millipor (Milli-Q Gradient A-10) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü)
- Packard Tri-corb-1200 sıvı sintilasyon sayacı (E. Ü., Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim. Dalı.)
- Gama kamera (Forte Gamma Camera System (SPECT), (ADAC Laboratories, Milpitas, CA, United States)
- Vorteks (Ika Genius)
- Santrifuj (Ependorf 5413)
- Liyofilizator (Labconco Free Zone 2,5 770)
- İvert mikroskop (Olympus CK 40)

3.2 Kimyasal Sentez Basamakları

3.2.1 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların Hazırlanması

(A) Basamağı

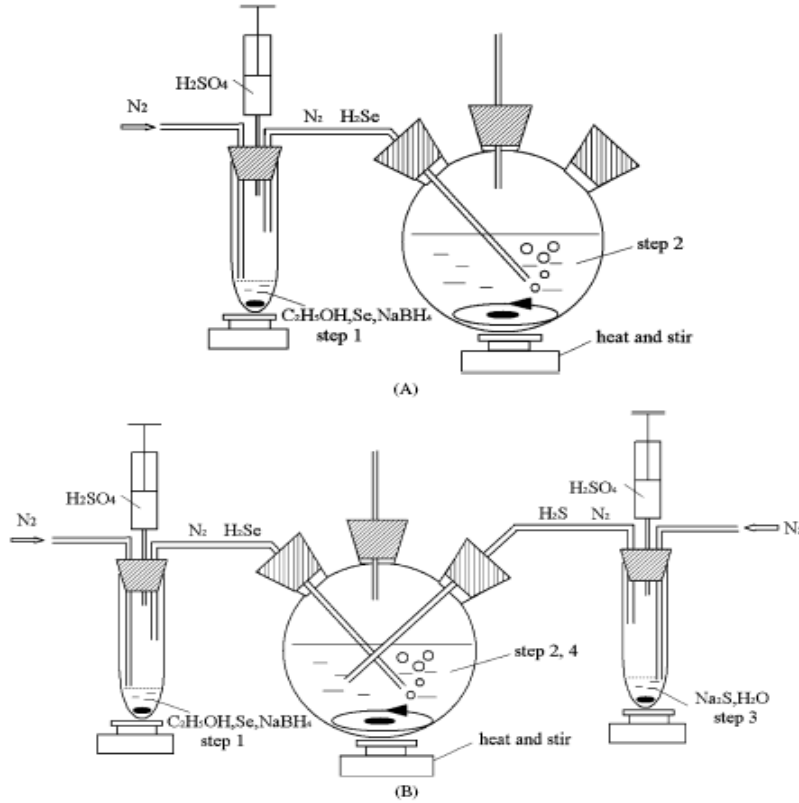
3.5 mg selenyum tetra klorür ve 7.5 mg sodyumborhidrür (NaBH_4) (5 mL distile su ile çözüldü) balon içerisine konuldu. Üzerine 1.5 mL mutlak etanol ilave edildi. Azot (N_2) gazı altında, karıştırıcı üzerinde, 45 °C’de reaksiyon başlatıldı. Yaklaşık 15 dk sonra (köpürme durduğu zaman) NaHSe ‘nın renksiz etanol çözeltisi oluştu.

(B) Basamağı

1.Adım : N_2 gazı altında, karıştırıcı üzerinde ;
NaHSe ‘nın etanol çözeltisi 50 mM H_2SO_4 ile (3-4 mL) dilüe edilerek H_2Se gazı oluşturuldu.

2.Adım : 0.0710 g Trisodyumsitratdihidrat tartılarak, 50 mL Tris-HCl tamponunda (pH:9) çözüldü. Karıştırıcı üzerinde 0.266 g $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ilave edildi. Reaksiyon sıcaklığı 75 °C ’dir.

3.Adım : Sodyum sülfür (NaS_2) ’ün sülfürik asit (H_2SO_4) (3-4 mL) ile dilüe edilmesiyle H_2S gazı oluşturuldu. İşlem oda sıcaklığında (25 °C) gerçekleştirildi.



Şekil 3.1 CdSe/CdS Kuantum dot nanoparçacıkların hazırlanma şeması.

3.2.2 Mannoz triflat-Sisteamin Bileşiğinin Sentezi

46.5 mg Mannoz triflat tartılarak 2 mL saf su ile 90 °C'deki ultrasonik banyo içerisinde çözüldü. Aynı bir tüpte 199.5 mg sisteamin tartılıp 250 µL saf suda çözüldü ve 150 µL derişik HCl ile pH'ı ~ 7.5'a ayarlandı. Hazırlanan mannoz triflat çözeltisi ile sisteamin çözeltisi karıştırıldı ve üzerine 100 mg NaCNBH₃ eklendi. 90 °C'de 1 saat karıştırılarak reaksiyonun gerçekleşmesi sağlandı. Bu süre sonunda ortamdaki su liyofilizasyon ile uzaklaştırıldı. (Babu et al., 2007)

3.2.3 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların Mannoz triflat-Sisteamin Bileşiği ile Konjugasyonu

Mannoz triflat-sisteamin (MTS) bileşiğinin 7.3 mg'ı 10 mL 0.035 M DMF içerisinde çözüldü. Aynı bir tüpte 17 mg CdSe/CdS kuantum dot 2 mL piridin içerisinde çözüldü ve bu çözeltinin 600 µL si mannoz triflat-sisteamin çözeltisine eklendi. Çözeltinin pH'ı NaBH₄ ile 10'a ayarlandı.

3.2.4 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıklara ve Mannoz triflat-Sisteamin Bileşiği Konjuge CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıklara SNA Lektininin Bağlanması

MTS-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklardan ve CdSe/CdS Kuantum Dot nanoparçacıklardan 1'er mL ayrı tüplere alındı. Üzerlerine 0.5 mg EDC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride ilave edildi. Vorteksledikten sonra orbital karıştırıcıda soğuk odada 2 saat karıştırıldı. Bu süre sonunda tüpler santrifüjlenerek üstteki faz atıldı. 250 µL saf su ile yıkanarak tekrar santrifüjlendi; böylece, ortamdaki EDC uzaklaştırılmış oldu.

1 mg madde için 0.5 µg olacak şekilde ortama SNA eklendi. Elde edilen madde miktarı 10 mg olarak bulundu; dolayısıyla, ortama 100 µg/100 µL'lik stok çözeltilerden 5 µL (5 µg) SNA eklenmiş oldu ve son hacimler su ile 1 mL'ye tamamlandı. Soğuk odada orbital karıştırıcıda 1 saat karıştırıldı. Bu süre sonunda çözeltiler santrifüjlenerek üstteki faz ayrıldı; böylece, bağlanmayan SNA ortamdan uzaklaştırılmış oldu. Elde edilen madde saf su ile çözülerek hücre kültürü çalışmalarında ve gama kamera görüntülerinin alınmasında kullanılmıştır.

3.2.5 Mannoz triflat-Sisteamin-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların ve Mannoztriflat-sisteamin-SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların ¹²⁵I ile İşaretlenmesi

3.2.5.1 Nükleofilik Sübstitüsyon Yöntemi ile İyodinasyon

Mannoz triflat-Sisteamin-CdSe/CdS Kuantum dot nanoparçacıkların ve Mannoz triflat-sisteamin-SNA-CdSe/CdS Kuantum dot nanoparçacıkların ¹²⁵I ile işaretleme çalışmaları nükleofilik sübstitüsyon yöntemine göre yapıldı.

Mannoz triflat bir florlama ajanı olduğundan nükleofilik olarak iyotlanabileceğide düşünülmüş ve hidroliz aşamasında aşağıdaki yöntemle doğrudan iyotlamaya çalışılmıştır. ¹²⁵I ile işaretleme reaksiyonu aşağıdaki yöntemle gerçekleştirilmiştir.

Saf su ile çözülen MTS-CdSe/CdS kuantum dot	1 mL	}
Saf su ile hazırlanmış 2 mg/mL K ₂ CO ₃ çözeltisi	200 µL	
33 µci ¹²⁵ I	1.7 µL	

Saf su ile çözülen MTS-SNA-CdSe/CdS kuantum dot	1 mL
Saf su ile hazırlanmış 2 mg/mL K ₂ CO ₃ çözeltisi	200 µL
33 µci ¹²⁵ I	1.7 µL

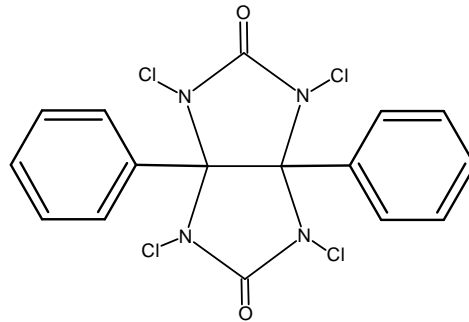
90 °C'deki su banyosunda karıştırılarak 30 dk.'da reaksiyon gerçekleştirildi.

3.2.6 SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot nanoparçacıkların ve SNA'nın ¹²⁵I ile İşaretlenmesi

SNA lektin'in ve SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot nanoparçacıkların ¹²⁵I ile işaretleme çalışmaları iodojen yöntemine göre yapıldı.

3.2.6.1 İodojen Yöntemi

İodojen'in (1,3,4,6-tetrachloro-3α,6α-diphenyl-glycoluril) kendisi suda çözünmez ancak sulu çözeltilerde heterojen olarak iyodun yükseltgenmesini sağlayarak hızlı iyodinasyonu sağlar. Bu nedenle bu yöntemde yan reaksiyonlar ihmal edilebilir düzeydedir. İodojen kloroformda veya diklorometanda çözünmesi ve kloroformun uçurulmasıyla iyodinasyonun yapıldığı kabın duvarlarında tabakalaşmayı sağlar ve reaksiyon katı fazda iodojen'in bulunduğu kaptaki reaksiyon çözeltisi ayrılarak sonlandırılır. İodojenin moleküler yapısı Şekil 3.2' de verilmiştir.



Şekil 3.2 İodojen' in moleküler yapısı.

3.2.6.2 İodojen Film Kaplı Tüplerin Hazırlanması

Belli miktar iodojen (250 µg ve 500 µg) cam tüp içinde 1 mL diklorometanda çözüldü. Oda sıcaklığında diklorometanın uçarak iodojenin cam tüpün çeperine ince bir film şeklinde kaplanması sağlandı.

3.2.6.3 SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların ¹²⁵I ile İşaretlenmesi

100 µL SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacık çözeltisi ve 1.7 µL (33µci) ¹²⁵I önceden hazırlanan 250 µg'lık iodojen tüpü içerisine konuldu. Reaksiyonun gerçekleşmesi için 20 dakika beklendi. Bu süre sonunda iodojen tüp içerisindeki çözelti boş bir tüpe aktarılarak reaksiyon sonlandırıldı. İşaretleme verimi TLRC yöntemi ile yapıldı.

3.2.6.4 SNA'nın ¹²⁵I ile İşaretlenmesi

33 µL SNA üzerine Millipor (Milli-Q Gradient A-10) cihazından elde edilmiş 100 µL bidistile su ilave edilerek seyreltildi ve 1.7 µL (33µci) ¹²⁵I ile önceden hazırlanan 250 µg'lık iodojen tüpü içerisine konuldu. Reaksiyonun gerçekleşmesi için 20 dakika beklendi. Bu süre sonunda iodojen tüp içerisindeki çözelti boş bir tüpe aktarılarak reaksiyon sonlandırıldı. İşaretleme verimi TLRC yöntemi ile yapıldı.

3.3 Analiz ve Kalite Kontrol İşlemlerinde Kullanılan Kromatografik Yöntemler

3.3.1 İnce Tabaka Radyo Kromatografi Yöntemi (TLRC)

TLRC yöntemi için kalınlığı 0.1 mm olan 20 x 20 cm boyutlarındaki silika kaplı alüminyum şeritler (Merck 5554) kullanıldı. Şeritler 1.5 x 10 cm olacak şekilde kesildi ve işaretli çözeltiler şeritlerin tabanından 0.5 cm yukarıya mikro pipet yardımıyla damlatıldı. Damlatılan örnekler şerit üzerinde kuruduktan sonra ağzı kapalı olan TLC küvetlerine (Sigma) uygulama noktası değmeyecek şekilde yerleştirildi. Çözgen, şeritin uç noktasına yakın bir yere kadar yürüdüktan sonra şeritler tank içinden çıkarıldı. Çözgenin yürüdüğü mesafe işaretlendi ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kontaminasyonu önlemek için şeritler kağıt bantla kaplandı.

Yapılan işaretleme çalışmalarında Bioscan AR2000 TLC tarayıcı kullanıldı. Hazırlanan şeritler cihaz üzerine yerleştirildi ve taramanın gerçekleşebilmesi için örneklere ait bilgiler ve istenilen tarama koşulları cihaza ait bilgisayar programına kaydedildi. Tarama sonucunda her bir örneğe ait radyokromatogramlar alındı. Kromatogramlardan yararlanarak radyoaktif maddelerin taşıdığı Rf değerleri ve

işaretleme verimleri belirlendi.

Deneyleer güvenirliliklerinin kontrolü açısından en az 4 kez tekrarlandı.

Kullanılan TLRC Banyo Çözeltileri:

TLRC-1 : izopropil alkol-n bütanol-0.2N NH₄OH (4-2-1)

TLRC-2 : n-bütanol-su-asetik asit (4-2-1)

TLRC-3 : n-bütanol-etanol-NH₄OH (5-2-1)

TLRC-4 : etil alkol-su (3-2)

Bunun yanı sıra, ACD çözeltisi de kalite kontrol çalışmaları için banyo çözeltisi olarak denendi ancak iyi bir ayırma sağlamadığından bütün deneylerde kullanılmadı.

3.3.2 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Yöntemi (HPLC)

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) çalışmaları düşük basınçlı LC-10Atvp dörtlü pompa ve (SPD-10AV)UV-VIS dedektörüne sahip olan Shimadzu marka HPLC cihazında yapılmıştır.

Çizelge 3.1 HPLC yönteminde uygulanan kromatografik koşullar.

Kolon	Aqua-OH 40-8 (Nucleogel)
Akış hızı	1 mL / dak
Dalga boyu	Ex:347 nm Em:474 nm
Mobil faz	Su
Sıcaklık	25 °C

Aqua-OH 40-8 kolon kullanılarak bu koşullarda alınan CdSe/CdS kuantum dot, CdSe/CdS kuantum dot-Mannoz triflat-sisteamin, SNA ve CdSe/CdS kuantum dot-SNA bileşiğine ait kromatogramlar 4. Bölüm'de verilmiştir.

3.4 Karakterizasyon Çalışmaları

Sentezlenen kuantum dot nanoparçacıkların ve mannoz triflat-sisteamin bileşiği konjuge kuantum dot nanoparçacıkların Floresans ve Absorbsiyon spektroskopisi, Floresans mikroskobu, AFM (Atomic Force Microscope) ve SEM (Scanning Electron Microscope) ile karakterizasyonu gerçekleştirildi.

Hazırlanan CdSe/CdS kuantum dotların eksitasyon ve emisyon dalga boylarının belirlenmesi için Floresans ve Absorbsiyon spektroskopisinde ölçümleri gerçekleştirildi.

Belirlenen dalga boylarında kuantum dotların gösterdikleri floresansın belirlenmesi ve konjugasyonun floresansta meydana getirdiği farklanmanın incelenmesi için floresans mikroskobunda görüntüleri alındı.

CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların yüzey morfolojisinin ve boyutlarının belirlenmesi için İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsünde SEM (Scanning Electron Microscope) (Phillips XL-30 S FEG) görüntüleri alındı. Örnekleri analize hazırlanmak için liyofilize edilen nanoparçacıklar kolay uçabilen bir çözücü olan metanol içerisinde çözüldü. Daha sonra SEM cihazına ait çelik plakalar üzerine konuldu, belli bir süre metanolün uçması için beklendi ve görüntüleri alındı.

Kuantum dotlar ve mannoz triflat konjuge kuantum dotlar boyutlarının ve konjugasyon sonunda boyutlarındaki farklanmanın belirlenmesi, morfolojileri hakkında bilgi edinilmesi için AFM (Atomic Force Microscope) (Q-Scope 250 Scanning Probe Microscope Ambios Tech., UK) ile karakterize edildi. Analiz E. Ü. Güneş Enerjisi Enstitüsü'nde gerçekleştirildi. Örnekler analiz için 1/1000 oranında çözücü ile seyreltildi ve lam üzerine mikropipet yardımıyla damlatıldı. Kurumaları beklendikten sonra görüntüleri alındı.

3.5 Hücre Kültürü Çalışmaları

3.5.1 Hücre Kültürünün Hazırlanması

Çalışmalarda MCF-7 meme kanser hücreleri, Caco-2 kalın barsak kanser hücreleri ve A-549 akciğer kanser hücreleri kullanılmıştır. Laboratuvar ortamında pasajı devam eden bu hücrelere hazırlanan I-125 ile işaretli örneklerin uygulanabilmesi için hücrelerin 6 adet 24'lük plate'e ekimi yapıldı. Bu işlem için sırasıyla aşağıdaki adımlar izlendi.

- ❖ Hücrelerin bulunduğu 25 cm²'lik flasklar içerisindeki RPMI (+ %10 FBS + %1 non esansiyel aminoasit + %1 Na-pirüvat + % 0,1 insülin+ % 1 penisilamin/ streptomisin + %1 L-glutamin) ortamı atıldı.
- ❖ Flasklar 5'er mL PBS ile yıkandı.
- ❖ Flaskların içerisindeki hücreler 3'er mL tripsin ile kaldırıldı ve flasklardan 2'şer mL falkon tüplerine alındı.
- ❖ 1300 rpm'de santrifüjlenerek süpernatant atıldı.
- ❖ Santrifüj sonunda tüpün dibinde kalan hücreler 5 mL PBS eklenerek süspanse edildi.
- ❖ Hücre sayımı yapıldı.

3.5.1.1 Hücre Sayımı

Hücre sayımında Neubauer Hemositometresi yöntemi kullanıldı. Hücreler sayım için 2 kat ve 5 kat olmak üzere iki farklı oranda seyreltildi ve triphan blue ile boyandı. Seyreltilen hücreler Neubauer lamına damlatıldı ve her bir seyreltme için 4 alan sayıldı. Hücre miktarı aşağıdaki formül ile belirlendi.

Hücre Miktarı: Sayım×Seyreltme faktörü ×10⁴(*)

Hesaplamalar sonucunda her bir kuyucukta 0,75 × 10⁵ tane hücre olabilmesi için stok hücre süspanسیونundan 187 µL alınacağı belirlendi. Bu hacim kuyucuklara konuldu ve üzerlerine 1'er mL PBS ilave edildi. Böylece kuyucuk başına 0,75 × 10⁵ tane hücre ekilmiş oldu.

* Bir sayım alanının ebatları 1 mm x 1 mm x 0,1 mm şeklindedir; dolayısıyla hacmi 0,1 mm³'tür. 0,1 mm³'teki hücre sayısını 1 ml'deki hücre sayısına çevirmek için 10⁴ ile çarpılması gereklidir.

3.5 2 Hücre Görüntüleme Çalışması

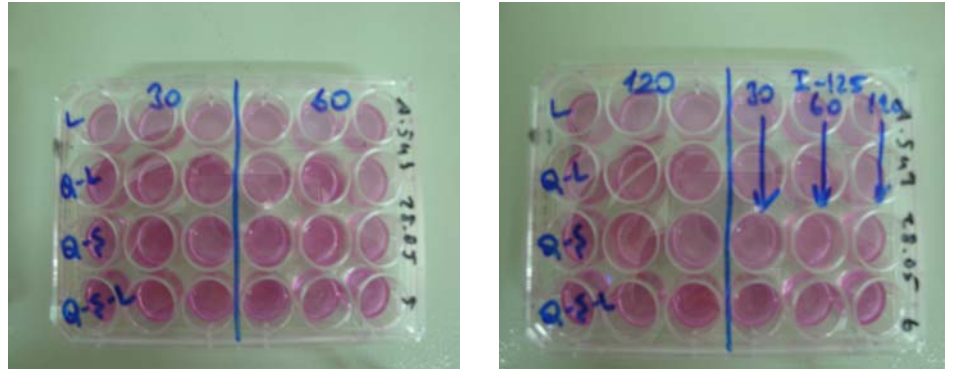
Çalışmada elde edilen mannoz triflat-sisteamin konjuge kuantum dotların *in vivo* olarak belirlenmesinde MCF-7 hücreleri sayısı 10^5 olacak şekilde petrilere ekildi. Hücrelerin bulunduğu petrillerdeki besiyeri vakum pompası ile uzaklaştırıldı ve % 0.9'luk NaCl ile 3 kez yıkandı. 500 μ L örnek petrilere eklendi. 2 saat'lik inkübasyon süresi sonunda floresan özellik gösteren örnekler floresan mikroskobu altında görüntüledi.

3.5.3 Biyoaffinitenin İncelenmesi

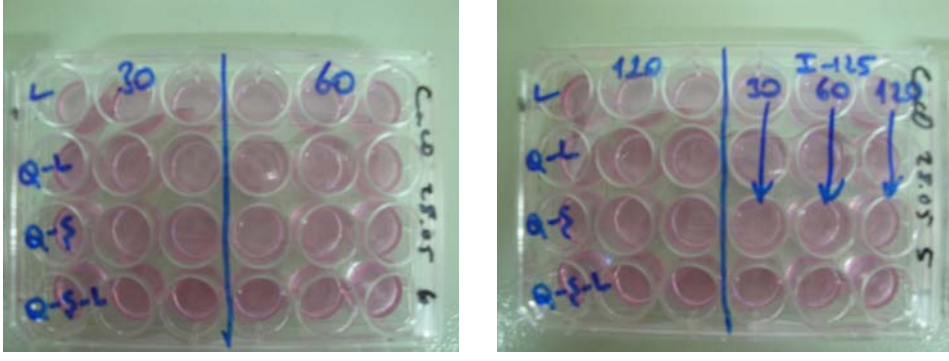
3.5.3.1 I-125 İşaretli Örneklerin MCF-7, Caco-2 ve A-549 Hücreleri Üzerindeki Bağlanma Etkinliğinin Zamana Bağlı Değişimi

Kuyucuklara ekilen hücreler, ^{125}I ile işaretli CdSe/CdS kuantum dot-SNA, SNA, CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin ve CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin-SNA'nın MCF-7, Caco-2 ve A-549 kanser hücrelerine olan affinitesinin incelenmesi için kullanıldı.

İyot-125 işaretli örneklerin MCF-7, Caco-2 ve A-549 hücreleri üzerindeki bağlanmanın optimum zamanını tespit etmek için zaman parametreleri 30.dakika, 60.dakika ve 120.dakika olarak belirlendi.



Şekil 3.3 A-549 hücreleri üzerindeki bağlanma etkinliğinin zamanla değişimi çalışması.



Şekil 3.4 Caco-2 hücreleri üzerindeki bağlanma etkinliğinin zamanla değişimi çalışması.

Hücelere uygulanacak olan işaretli örneklerin kuyucuk başına spesifik aktivitesi 3 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ olarak belirlendi. Bunun için örnekler aşağıdaki şekilde hazırlandı.

^{125}I : Her kuyucuk başına 500 μL gelecek şekilde toplam 8 kuyucuk için 4 mL MEM besiyerine 33 μCi (1.7 μL) ^{125}I eklendi.

^{125}I işaretli SNA : Toplam 11 kuyucuk için 5.4 mL MEM besiyerine 33 μCi (1.7 μL) ^{125}I işaretli SNA lektininin 100 μL eklendi.

^{125}I işaretli CdSe/CdS kuantum dot-SNA : Toplam 11 kuyucuk için 5.4 mL MEM besiyerine 33 μCi (1.7 μL) ^{125}I işaretli CdSe/CdS kuantum dot-SNA'dan 100 μL eklendi.

^{125}I işaretli CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin : Toplam 11 kuyucuk için 4.5 mL MEM besiyerine 33 μCi (1.7 μL) ^{125}I işaretli CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin'den 1 mL eklendi.

^{125}I işaretli CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin-sna : Toplam 11 kuyucuk için 4.5 mL MEM besiyerine 33 μCi (1.7 μL) ^{125}I işaretli CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin-SNA'dan 1 mL eklendi.



Şekil 3.5 Hücrelere uygulanacak besiyeri içerisinde I-125 işaretli örnekler.

Hazırlanan örnekler hücrelere uygulanmadan önce hücrelerin bulunduğu kuyucuklardaki besiyeri vakum pompası ile uzaklaştırıldı ve % 0.9'luk NaCl ile 3 kez yıkandı. Yıkamanın ardından her bir kuyucuğa hazırlanan ¹²⁵I işaretli örnekleri içeren besiyerinden 0.5 mL eklendi.

İnkübasyon süreleri önceden belirlendiği gibi 30, 60 ve 120 dakika olarak uygulandı. Bu süreler sonunda hücreler üzerindeki işaretli besi ortamı vakum pompası ile uzaklaştırıldı ve % 0.9'luk NaCl ile 3 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 200 µL Ripa eklenerek hücre parçalanması (liziz) sağlandı. Pipet ucuyla hücre yüzeyi kazındı ve aynı zamanda pipetle çözelti çekilip bırakılarak hücrelerin Ripa tamponuna geçmesi sağlandı. Hücrelerin yüzeyden kaldırılıp çözeltiliye geçmesi sağlandıktan sonra hücreler ependorf tüplerine alındı. Hücreler üzerinde tutulan radyoaktivite miktarını tespit etmek için 100 µL'si farklı ependorf tüplere ayrıldı ve üzerine 900 µL sintilatör (1,2,4-Trimetilbenzen) (LSC-cocktail) eklendi. Ependorf tüpler sintilasyon cihazı için özel olarak kullanılan kapların içerisine konulup Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalında bulunan Packord Tri-corb-1200 sıvı sintilasyon cihazında sayıldı.

Hücrelerin protein miktarlarının belirlenmesi için kalan çözeltiden 25 µL alındı. Protein analizi Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalında bulunan Thermo Scientific Multiscan FC Biorad cihazı kullanılarak Bicinchoninic asit yöntemi ile 560 nm de tespit edildi. Protein sonuçları kullanılarak hücre başına düşen aktivite değerleri hesaplandı. Kontrol grubu sayımları ile bu değerler oranlanarak % bağlanma değerleri bulundu.

Yapılan bu çalışma ile ^{125}I ile işaretli CdSe/CdS kuantum dot-SNA, SNA, CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin ve CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin-SNA'nın MCF-7, Caco-2 ve A-549 kanser hücreleri üzerindeki optimum bağlanmanın hangi zaman parametresinde olduğu tespit edildi. Ayrıca bu 3 farklı hücre hattı üzerindeki bağlanma etkinlikleri arasındaki fark belirlendi.

Ayrıca, her bir parametre seviyesi için elde edilen % bağlanma değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olup olmadığını belirlemek için tek yönlü varyans analizi yapılmıştır. P-değeri göz önüne alınarak % bağlanma değerleri arasında 0.95 güven düzeyinde anlamlı bir farkın olup olmadığı tespit edilmiştir.

3.6 Tavşanlarda Görüntüleme Çalışması

^{131}I ile işaretli örneklerin canlılar üzerindeki dağılımını görmek için tavşanlar üzerinde görüntüleme çalışmaları yapıldı.

Görüntüleme çalışmaları için 3.5-4 kg ağırlığında, dişi, Yeni Zelanda tavşanları kullanıldı. Çalışma, Ege Üniversitesi Hayvan etik kurulunun 28.07.2009 tarih ve 2009-87 sayılı onayı ile gerçekleştirildi. Tavşanlar Ege Üniversitesi Hayvan Araştırma laboratuvarından temin edildi. Tavşanların maruz kalacağı ağrı ve sıkıntıyı önlemek amacıyla ketamin ve ksilazin (35 mg/kg) ile uyutularak anestezi sağlandı. Statik görüntüleme için 1.15 mCi ^{131}I ile işaretli CdSe/CdS kuantum dot-SNA, CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin ve CdSe/CdS kuantum dot-MTS-SNA örnekleri tavşanlara kulak veninden enjekte edildi. Forte Gamma Camera System (SPECT) gama kamera kullanılarak 30 dk ve 24 saat de anterior ve posterior pozisyonlarda görüntüler alındı.

3.7 İstatistik Analizler

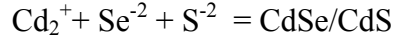
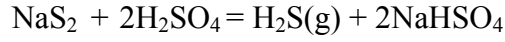
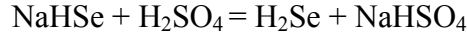
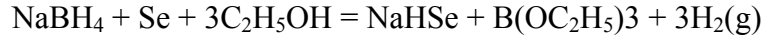
Çalışmalardan elde edilen sonuçların istatistik analizleri GraphPad istatistik programı kullanılarak yapıldı. Örneklerin ortalama bağlanma değerleri ile standart sapmaları hesap edildi. Bağlanma değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olup olmadığını belirlemek için tek yönlü ANOVA analizi yapıldı. Analiz sonuçları değerlendirilirken bağlanma değerleri arasında 0.95 güven düzeyinde anlamlı bir farkın olup olmadığı P değerlerine bakılarak tespit edildi. P değeri 0.05'den küçük olanlar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Reaksiyon Mekanizmaları

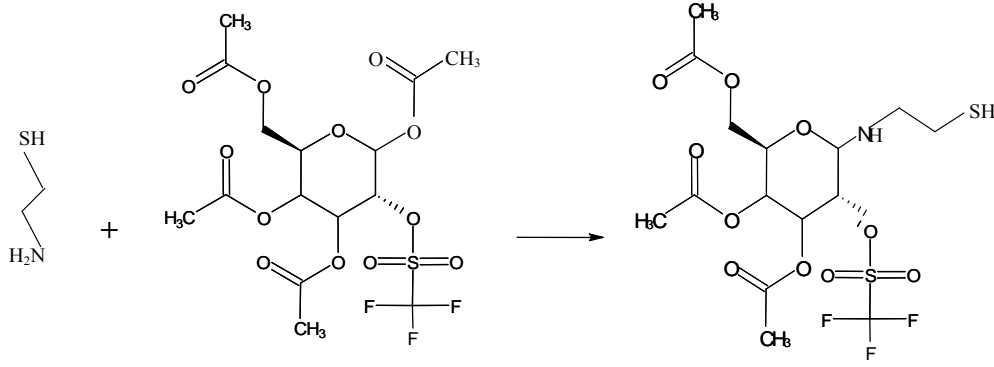
4.1.1 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların Hazırlanması

Kuantum dot nanoparçacıkların hazırlanmasında çoğunlukla TOPO (tri-n-oktilfosfin) veya TOP, hekzadesilamin gibi organik çözücülerin kullanıldığı, 250-300 °C gibi yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen sentez yöntemleri kullanılmaktadır (Gao et al., 2005; Mulder et al., 2006; Wang et al., 2007). Bu çalışmada klasik sentez yöntemlerinden farklı olarak düşük sıcaklıkların kullanıldığı, kolay hazırlanabilir sentez düzeneğine sahip ve basit reaktiflerden oluşan bir yöntem kullanılmıştır. Bu kullanılan yöntem literatürde çeşitli araştırmacılar tarafından kullanılmıştır. Deng ve arkadaşları bu reaksiyonla hazırladıkları suda çözülebilir ve yüksek foto kararlılığa sahip CdSe ve CdSe/CdS kuantum dotları biyolojik uygulamalarda kullanmayı amaçlamaktadır. CdSe/CdS kuantum dot'lara ait sentez reaksiyonları aşağıda verilmiştir.



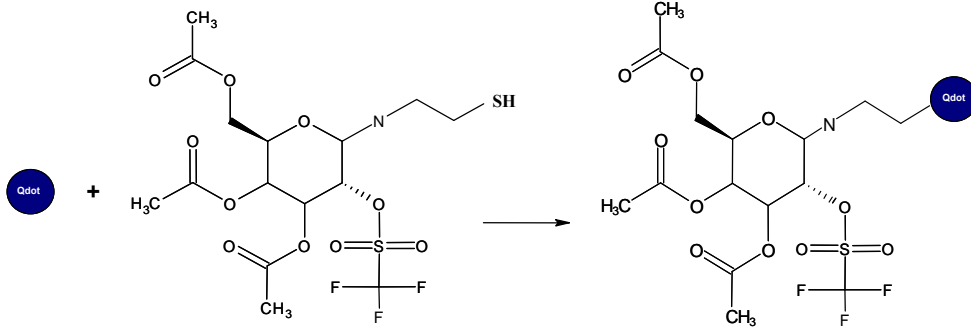
4.1.2 Mannozy Triflat-Sisteamin Bileşiğinin Sentezi

Mannoz triflat bileşiğinin sisteamin ile konjugasyonu sonucunda Mannoz triflat'a SH grubunun konjugasyonu reaksiyonun (3,4-di-O acetyl-2-deoxy-2-fluoro-N-(2-mercaptoethyl)hexopyranuronosyl amine) beklenen mekanizması Şekil 4.1'de verilmiştir. Bu reaksiyon ile mannoz-triflat'ın yapısına bir sonraki sentez basamaklarında CdSe/CdS kuantum dotların bağlanabilmesi için -SH grubu katılmıştır. Aynı reaksiyonlar ¹⁸F işaretli karbohidrat konjuge altın (Ünak, 2009) ve ¹⁸F işaretli karbohidrat konjuge demirli (Toksöz, 2009) nanoparçacıkların sentezi sırasında kullanılmıştır. Bu çalışmalar sırasında yapı aydınlatılmasında kullanılacak LC-MS ve Malditoff MS analizleri yapılmıştır. Bu nedenle bu çalışmada bu aşama için yapı aydınlatması yapılmamıştır.



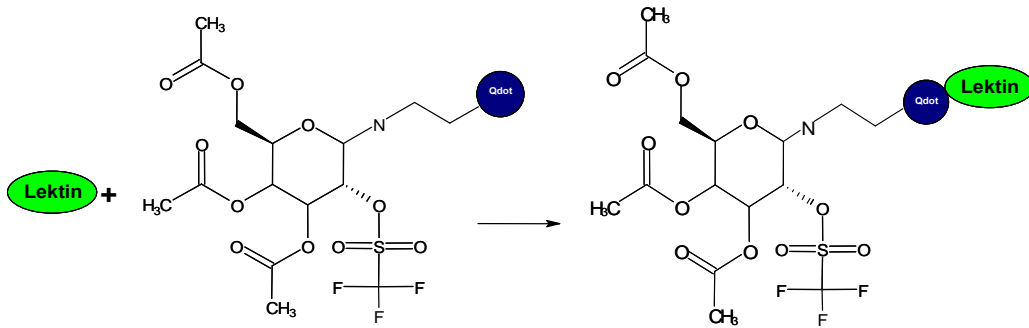
Şekil 4.1 Mannoz triflat'a sisteamin bağlanma reaksiyonu.

4.1.3 CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların Mannoz triflat-Sisteamin Bileşiği ile Konjugasyonu



Şekil 4.2 CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların mannoz triflat-sisteamin bileşiği ile konjugasyon reaksiyonu.

4.1.4 Mannoz triflat-Sisteamin Konjuge CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıklara SNA'nın Bağlanması



Şekil 4.3 Mannoz triflat-sisteamin konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların SNA ile bağlanma reaksiyonu.

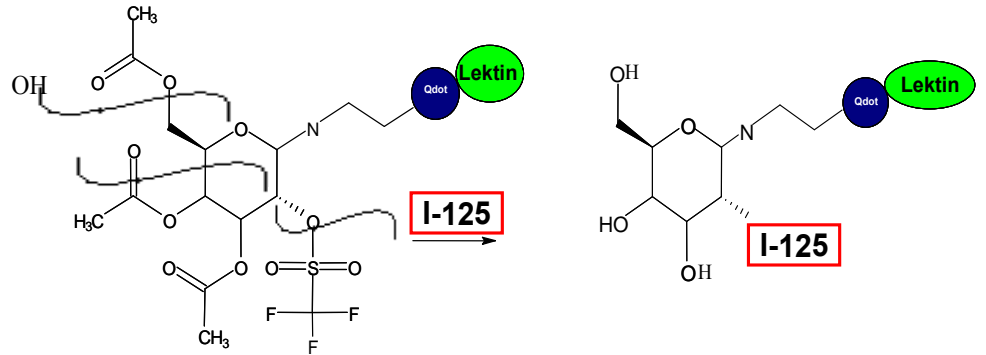
4.1.5 Mannoz triflat-sisteamin-SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıkların I-125 ile İşaretlenmesi

4.1.5.1 Nükleofilik Sübstitüsyon Yöntemi ile İyodinasyon

Mannoz triflat bir florlama ajanı olarak literatürde kullanılmıştır (Gillies et al, 2006). Bu çalışmada nükleofilik olarak iyotlanabileceği de düşünülmüş ve hidroliz aşamasında doğrudan iyotlamaya çalışılmıştır. İyodür florüre göre daha büyük ve daha az elektronegatif bir halojen olduğundan florlamada kullanılan kriptomixin bu reaksiyonda kullanılmasına gerek duyulmamıştır. Reaksiyon sonucu %100 verim ile ^{125}I işaretli deoxyglucose konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklar elde edilebilmiştir. Radyoiyodinasyon basamağı reaksiyonun son aşaması olarak tercih edildiğinden ara basamak olarak ^{125}IDG (^{125}I iododeoxyglucose) sentezi denenmemiştir.

Nükleofilik yer değiştirme reaksiyonlarının ikinci mertebeden oldukları (SN2) ve iyodürün iyi bir nükleofil olduğu bilinmekle beraber ^{18}F ile nükleofilik florlamada ^{18}F işaretli glukozun nükleofilik radyokimyasal sentezinde çıkış maddesi olarak kullanılan mannoz triflatın nükleofilik sübstitüsyon ile iyodinasyon reaksiyonuna ilişkin literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Şekil 4.4’de CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin-SNA’a nükleofilik sübstitüsyon sonucu I-125 bağlanması gösterilmiştir. Bu reaksiyonda I-125 2 no’lu karbona saldırarak triflorometansulfonyl grubunu uzaklaştırmış ve yerine kendi bağlanmıştır.



Şekil 4.4 Mannoz triflat-sisteamin-SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların I-125 ile işaretlenme reaksiyonu.

4.1.5.2 İodojen Yöntemi ile İyodinasyon

İodojen, 1,3,4,6-tetrachloro-3 alpha, 6 alpha-diphenylglucoluril açık isimli bir yükseltgeyici ajandır ve iyodun yükseltgenmesi sırasında elektrofilik süstitüsyon ile yer değiştirmesine dayanır ve bu süstitüsyonu yapabilen pek çok farklı molekülün radyoiyodinasyonunda kullanılmıştır (Aşıkoğlu vd., 2000; Avcıbaşı vd., 2008; Özdemir and Ünak, 1994; Ünak and Ünak, 1996; Ünak vd., 1997; Ünak vd., 2007; Medine, 2010). İodojenin oksidasyon mekanizması çok açık olmamakla beraber yapıdaki iki karbonil grubunun yükseltgeme mekanizmasında rol oynadığı düşünölmektedir. Lektinlerin radyoiyodinasyonuna ilişkin literatürde mevcut tek çalışmada ise Barrientos ve arkadaşları, V.album agglutinin isimli lektini iodojen yöntemi kullanarak ¹²⁵I ile işaretlemiş ve artan laktoz konsantrasyonunun altın nanoparçacıklara takılan lektinlerin reseptör ligand etkileşimini arttırabileceğini rapor etmişlerdir (Barrientos et al., 2009).

İodojen ile ilgili bilinen açık bir iyodinasyon mekanizması olamamakla birlikte lektinler büyük glikoprotein molekülleri olduğundan iodojenli ortamda oluşan yükseltgenmiş iyot iyonlarının yapıda mevcut tirozin gibi aminoasit köklerine elektrofilik süstitüsyon ile bağlandığı tahmin edilmektedir.

4.2 Kalite Kontrol Çalışmalarının Sonuçları

4.2.1 TLRC Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçlar

4.2.1.1 ¹²⁵I ile işaretli SNA ve SNA-CdSe/CdS Kuantum Dot Nanoparçacıklara İlişkin TLRC Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçlar

İnce tabaka radyokromatografisi (TLRC) yöntemi ile gerçekteştirilen kalite kontrol çalışmaları sonucunda elde edilen R_f ve % verim değerleri sırasıyla Çizelge 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

Kullanılan Banyo Çözeltileri:

TLRC-1 : izopropil alkol-n bütanol-0.2N NH₄OH (4-2-1)

TLRC-2 : n-bütanol-su-asetik asit (4-2-1)

TLRC-3 : n-bütanol-etanol-NH₄OH (5-2-1)

TLRC-4 : etil alkol-su (3-2)

TLRC-5 : ACD

50 µg, 100 µg, 250 µg ve 500 µg gibi farklı miktarlarda iodojen kullanılarak işaretlenen bileşiklerin % verimleri incelendiğinde en iyi % verimin 250 µg iodojen tüpü kullanılarak alındığı belirlenmiştir. Bundan sonraki aşamada bileşiklerin işaretlenmesi için 250 µg'lık iodojen tüpleri kullanılmıştır.

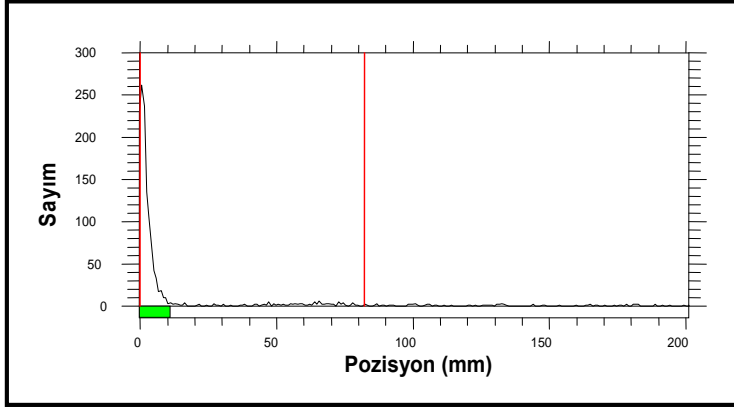
Çizelge 4.1'den de görüldüğü üzere TLRC-5 banyosunda ¹²⁵I işaretli Q-SNA ve SNA bileşiklerinin R_f değerlerinin birbirine çok yakın olduğu, dolayısıyla yeterince ayırt edici bir çözelti olmadığı sonucuna varılmıştır. Diğer banyolarda ise işaretli bileşiklerin R_f değerlerinin hem birbirlerinden hem de ¹²⁵I ve yükseltgenmiş iyotun R_f değerlerinden çok farklı olduğu görülmektedir. Ancak % verimler incelendiğinde TLRC-1 ve TLRC-2 banyolarında ¹²⁵I işaretli bileşiklerin en yüksek verime sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 250 µg iodojen tüpü kullanılarak ¹²⁵I ile işaretli bileşiklerin TLRC yöntemi ile R_f değerleri.

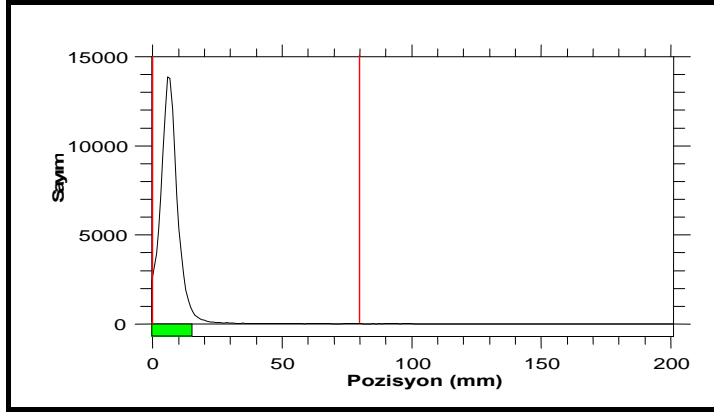
Banyo Çözeltisi	¹²⁵ I-Q-SNA	¹²⁵ I-SNA	Yükseltgenmiş İyot	¹²⁵ I
TLRC-1	0.02	0.04	0.74	0.90
TLRC-2	0.03	0.05	0.71	0.93
TLRC-3	0.02-0.03	0.03	0.65	0.90
TLRC-4	0.04	0.06	0.87	0.94
TLRC-5	0.01-0.02	0.01-0.02	0.87	0.87

Çizelge 4.2 250 µg iodojen tüpü kullanılarak ¹²⁵I ile işaretli bileşiklerin TLRC yöntemi ile % Verim değerleri.

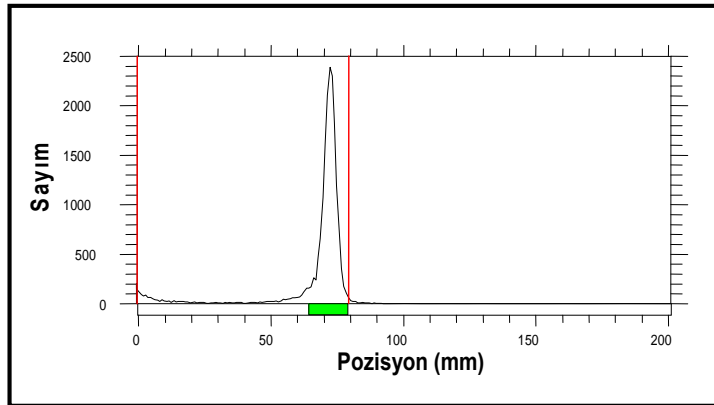
Banyo Çözeltisi	Verim %	
	¹²⁵ I-Q-SNA	¹²⁵ I-SNA
TLRC-1	100±0	99.22±0.1
TLRC-2	98.47±0.8	97.01±1.0
TLRC-3	96.45±2.4	94.22±1.3
TLRC-4	95.98±1.0	94.22±0.9
TLRC-5	94.20±0.8	93.32±4.2



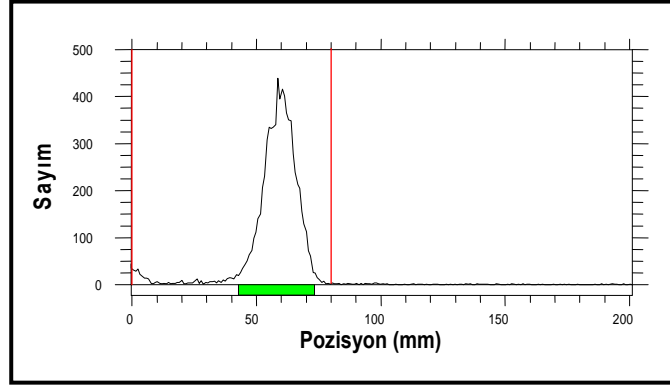
Şekil 4.5 TLRC-1 banyosunda ^{125}I -SNA CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait TLRC kromatogramı.



Şekil 4.6 TLRC-1 banyosunda ^{125}I -SNA' a ait TLRC kromatogramı.



Şekil 4.7 TLRC-1 banyosunda ^{125}I ' a ait TLRC kromatogramı.



Şekil 4.8 TLRC-1 banyosunda yükseltgenmiş $^{125}\text{I}^-$ a ait TLRC kromatogramı.

4.2.1.2 ^{125}I ile işaretli MannoZ triflat-Sisteamin-CdSe/CdS Kuantum dot Nanoparçacıklara ve SNA-MannoZ triflat-Sisteamin-CdSe/CdS Kuantum dot Nanoparçacıklara ilişkin TLRC Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçlar

İnce tabaka radyokromatografisi (TLRC) yöntemi ile gerçekleştirilen kalite kontrol çalışmaları sonucunda elde edilen R_f ve % verim değerleri aşağıdaki çizelgelere verilmiştir.

Kullanılan Banyo Çözeltileri:

TLRC-1 : izopropil alkol-n bütanol-0.2N NH_4OH (4-2-1)

TLRC-2 : n-bütanol-su-asetik asit (4-2-1)

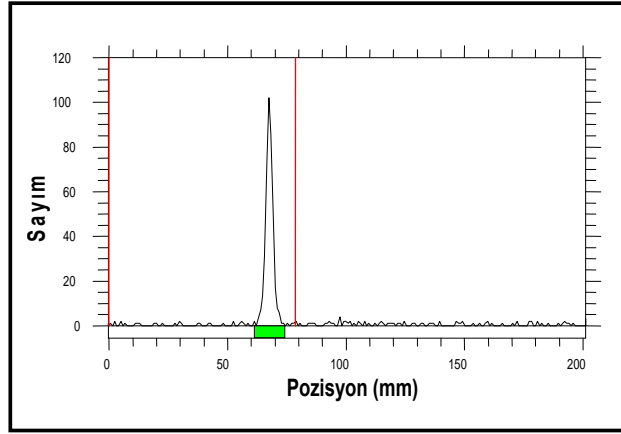
TLRC-1 ve TLRC-2 banyo çözeltilerine ait sonuçlar incelendiğinde her iki banyonunda işaretli bileşikler için ayırt edici bir çözelti olduğu görülmektedir. Güvenilirliklerinin kontrolü için yapılan en az 4 deneme sonucunda işaretli bileşiklerin verimi % 100 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3 ^{125}I ile işaretli bileşiklerin TLRC yöntemi ile R_f değerleri.

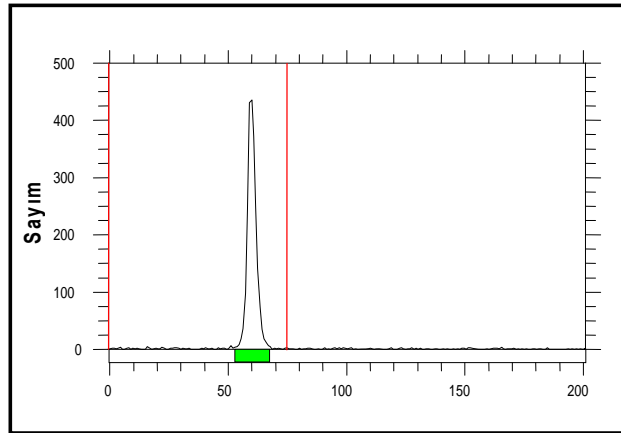
Banyo Çözeltisi	R_f	
	^{125}I -Qdot-MTS	^{125}I -Qdot-MTS-SNA
TLRC-1	0.87	0.80
TLRC-2	0.74	0.65

Çizelge 4.4 ^{125}I ile işaretli bileşiklerin TLRC yöntemi ile % Verim değerleri.

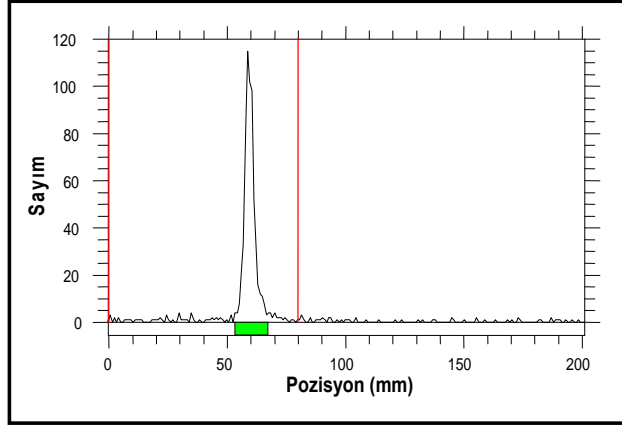
Banyo Çözeltisi	Verim %	
	^{125}I -Qdot-MTS-SNA	^{125}I -Qdot-SNA
TLRC-1	100±0	100±0
TLRC-2	100±0	100±0



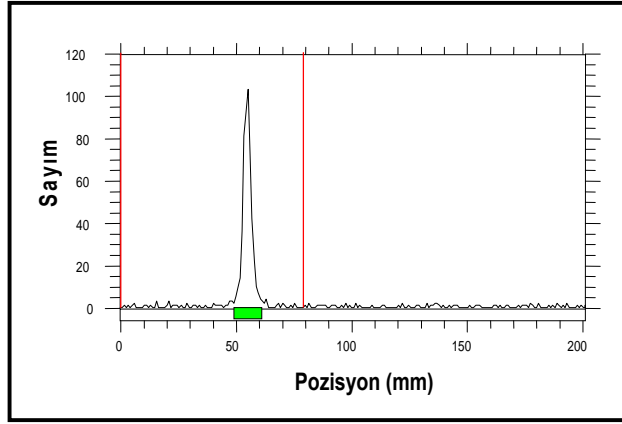
Şekil 4.9 TLRC-1 banyosunda ^{125}I - MTS-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklarına ait TLRC kromatogramı.



Şekil 4.10 TLRC-1 banyosunda ^{125}I - MTS-SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklarına ait TLRC kromatogramı.



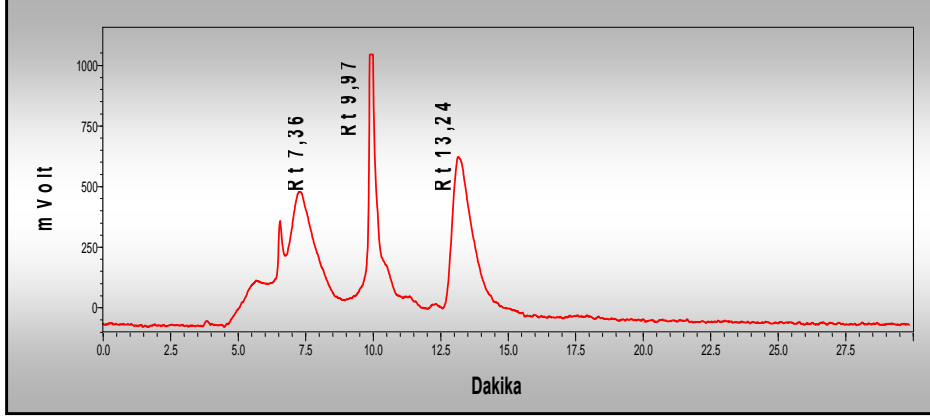
Şekil 4.11 TLRC-2 banyosunda ^{125}I - MTS-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait TLRC kromatogramı.



Şekil 4.12 TLRC-2 banyosunda ^{125}I - MTS-SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait TLRC kromatogramı.

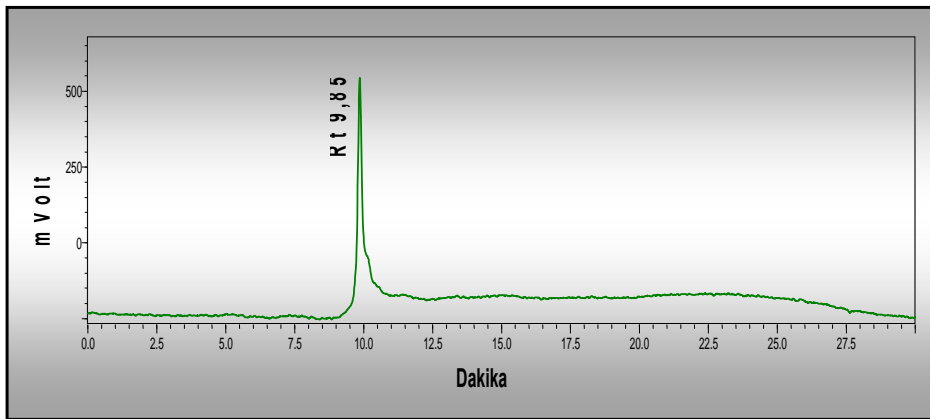
4.2.2 HPLC ile Elde Edilen Sonuçlar

CdSe/CdS kuantum dot, CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin, SNA ve CdSe/CdS kuantum dot-SNA örneklerine ait kromatogramlar şekil 4.13, 4.14, 4.15 ve 4.16’de gösterilmiştir.

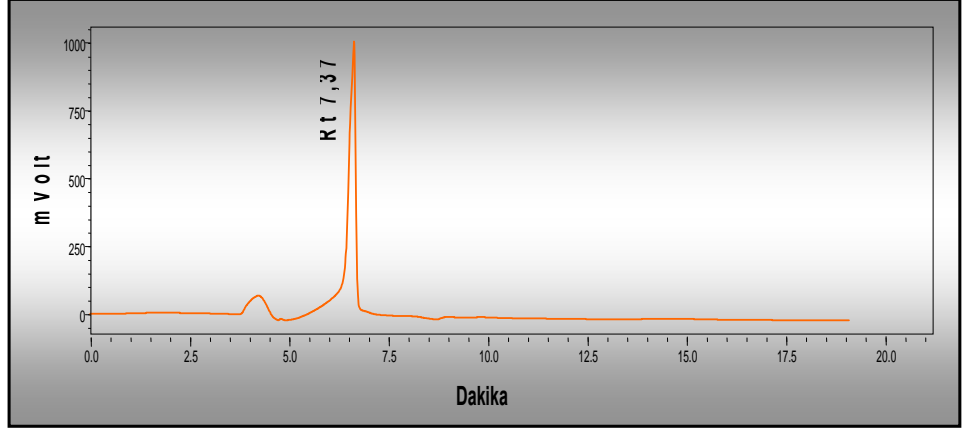


Şekil 4.13 CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait HPLC kromatogramı.

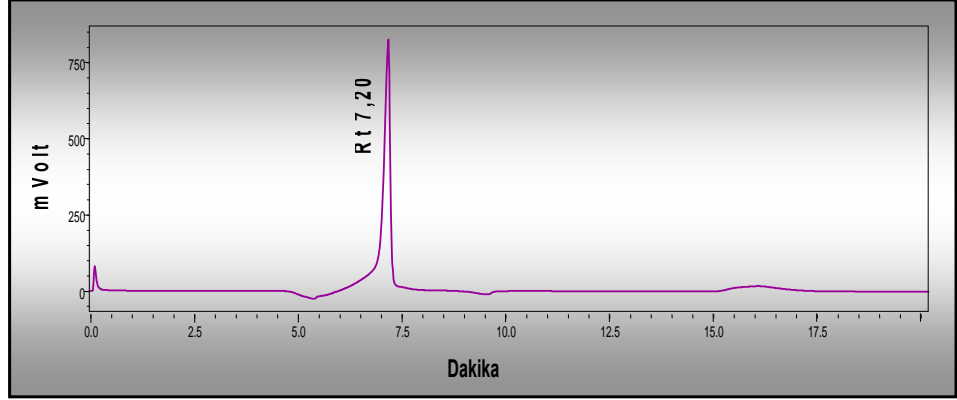
Çizelge 3.1’de verilen koşullarda, Aqua-OH 40-8 kolonunda ex:347 em:464’de floresans FL dedektöründe CdSe/CdS kuantum dotlara ait Rt (Alıkonma Zamanı) değerleri 7.36, 9.97 ve 13.24 olarak saptanmıştır. Kullanılan kolon bileşikleri molekül büyüklüğüne göre ayırma yaptığından kuantum dotların farklı boyutlarına ait pikler görülmektedir. Kolondan ilk olarak molekül boyutu büyük olan moleküller arkadan küçük olan moleküller gelmektedir.



Şekil 4.14 Mannoz triflat-sisteamin konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait HPLC Kromatogramı.



Şekil 4.15 SNA'a ait HPLC Kromatogramı.



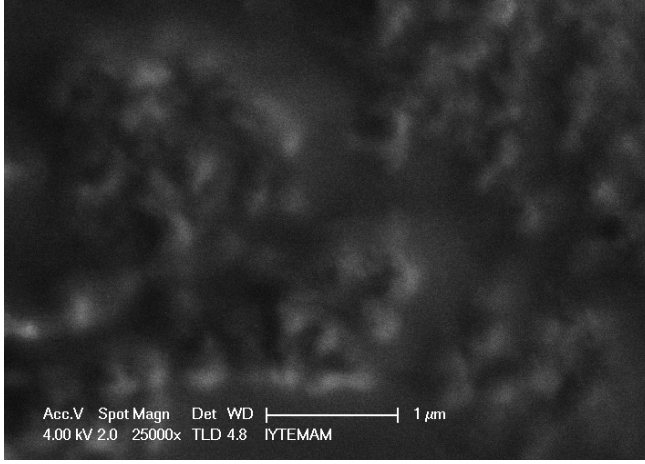
Şekil 4.16 SNA-CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklara ait HPLC Kromatogramı.

Aqua-OH 40-8 kolonunda ex:347 em:464 'de floresans FL dedektöründe SNA-CdSe/CdS kuantum dotlara ait Rt (Alıkonma Zamanı) değeri 7.20, SNA'a ait Rt değeri 7.37, Mannoz triflat-Sisteamin-CdSe/CdS kuantum dotlara ait Rt değeri 9,85 olarak saptanmıştır. Kullanılan kolon bileşikleri molekül büyüklüğüne göre ayırma yaptığından ilk olarak SNA konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklar daha sonra SNA lektini ve en sonda Mannoz triflat konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklar kolondan yürümüştür. Buda lektinlerin kuantum dot nanoparçacıklarla konjugasyonu sonucu boyutlarının büyüdüğünü göstermektedir.

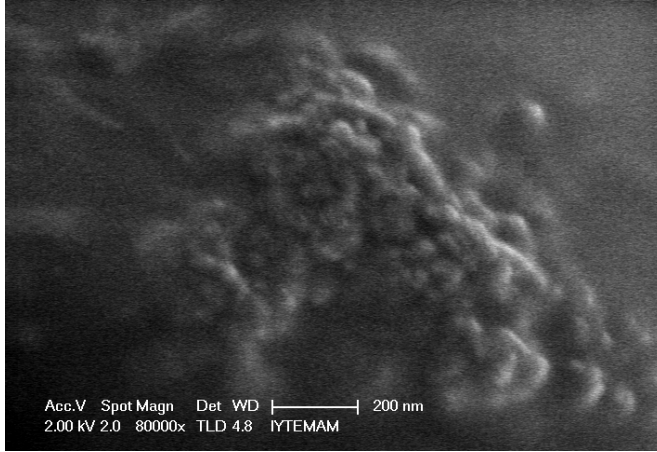
4.3 Parçacıkların Karakterizasyonu

4.3.1 SEM Analiz Sonuçları

CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların yüzey morfolojisi ve boyut analizleri İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsünde SEM (Scanning Electron Microscope) görüntüleri alınarak incelenmiştir. CdSe/CdS kuantum dotların SEM görüntüleri sırası ile Şekil 4.17 ve Şekil 4.18’de belirtilmiştir. Kuantum dotların küresel bir yapıda olduğu tespit edilmiştir.



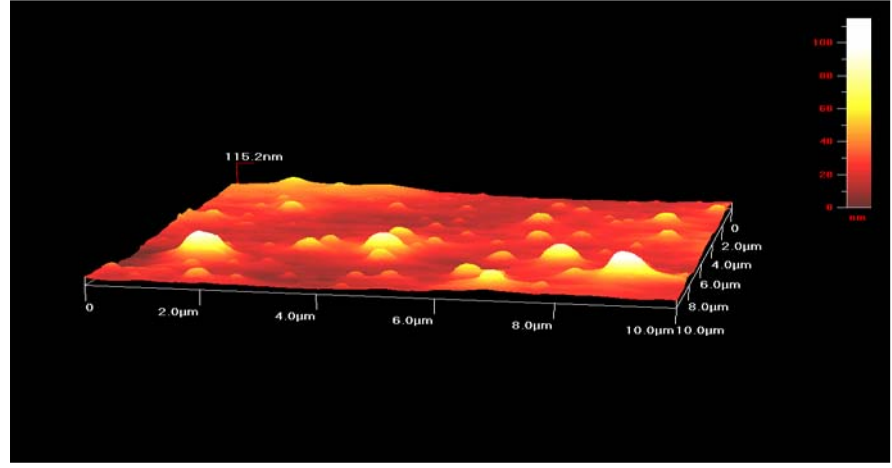
Şekil 4.17 CdSe/CdS kuantum dotların 25000 büyütmede SEM görüntüsü.



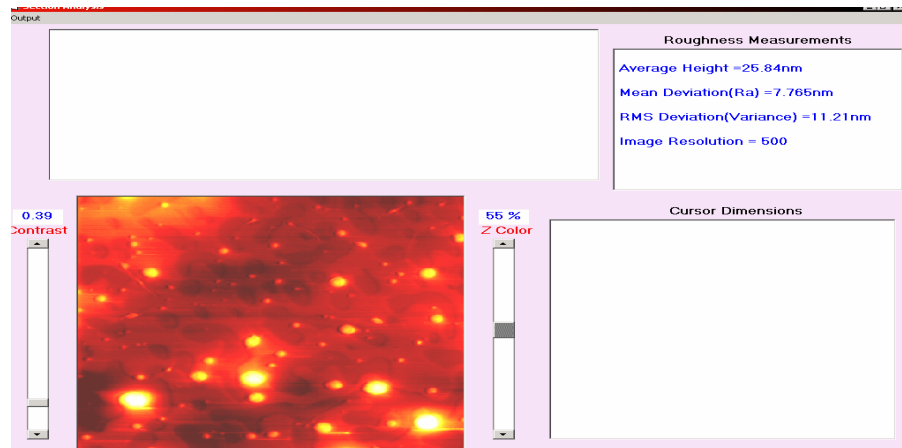
Şekil 4.18 CdSe/CdS kuantum dotların 80000 büyütmede SEM görüntüsü.

4.3.2 AFM (Atomic Force Microscope) Sonuçları

CdSe/CdS kuantum dotlar'ın ve Mannoz triflat-sisteamin-CdSe/CdS kuantum dotlar'ın AFM sonuçları sırasıyla Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'da belirtilmiştir. Şekil 4.19 (a) ve (b) CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların küresel bir yapıda ve ortalama parçacık boyutunun yaklaşık 7-8 nm civarında olduğunu göstermektedir. Şekil 4.20 (a) ve (b)'da kuantum dot nanoparçacıkların MTS ile konjugasyonu sonucu yüzey homojenliğinin değişmediği ve MTS'e bağlı boyut farklanmalarının olduğu görülmektedir. MTS konjugasyonu ile parçacık boyutunun ortalama 12-13 nm arasına yükseldiği tespit edilmiştir. Parçacıklar yine Şekil 4.19 (a) ve (b) benzer şekilde küresel bir yapı sergilemektedir.

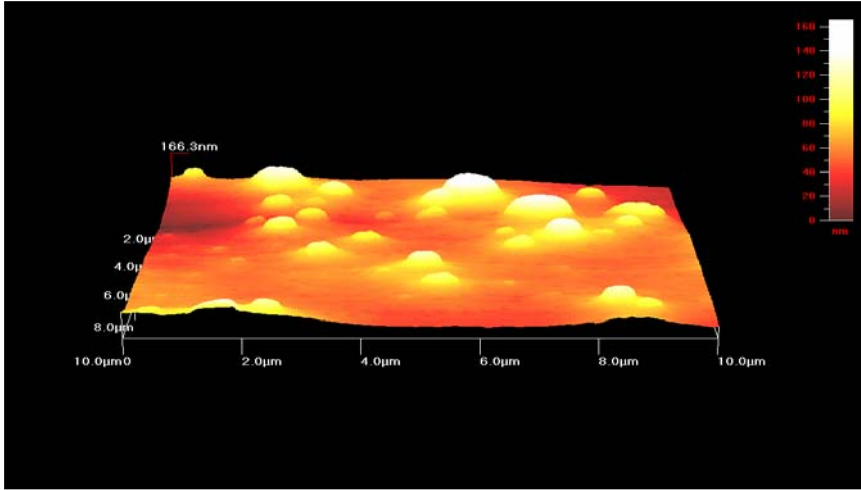


(a)

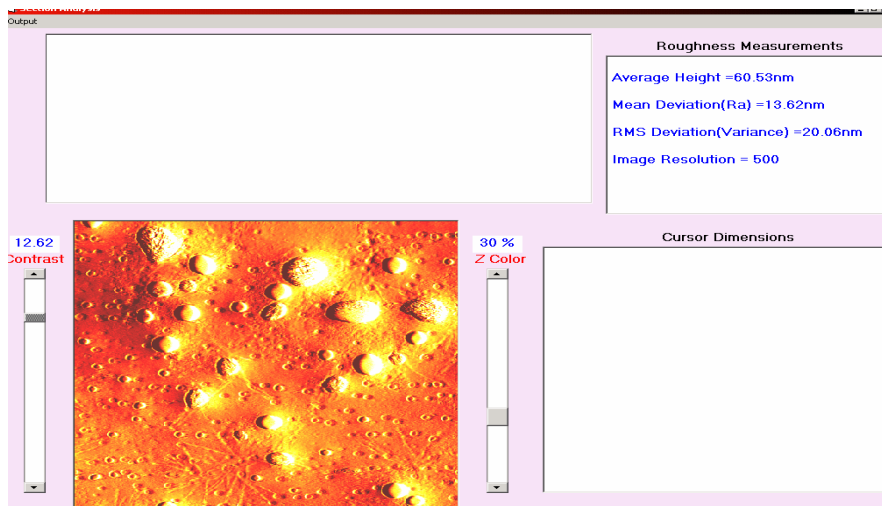


(b)

Şekil 4.19 CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların AFM görüntüsü.



(a)

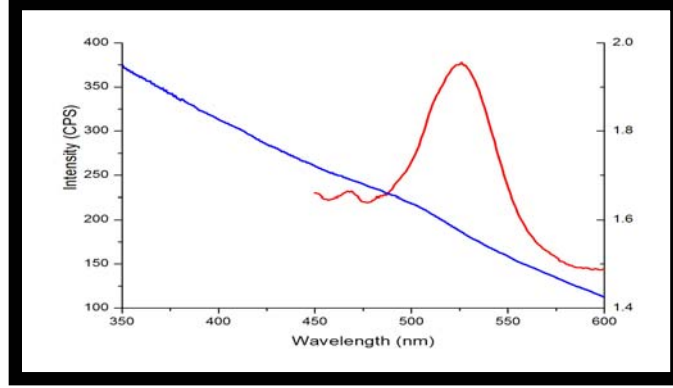


(b)

Şekil 4.20 Mannoz triflat-sisteamin konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların AFM görüntüsü.

4.3.3 Floresans ve Absorbsiyon Spektroskopisi Sonuçları

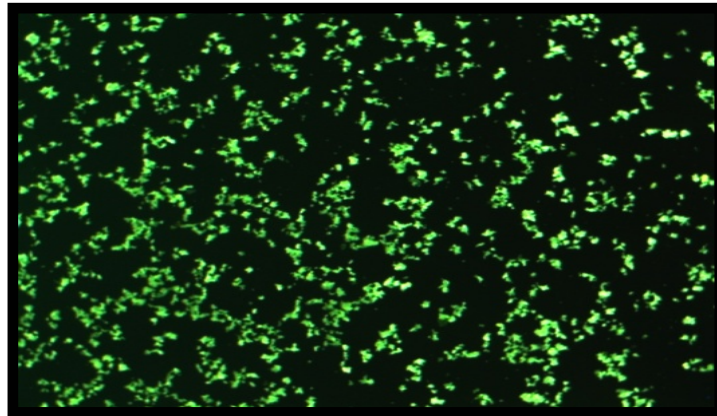
CdSe/CdS kuantum dotlar'ın ve Floresans ve Absorbsiyon spektroskopisi (Fluoromax-4 spectrofluorometer HORIBA JOBIN YVON EDISON, NJ USA) ölçümleri University of Applied Sciences Jena'da alınmıştır. Elde edilen sonuçlar CdSe/CdS kuantum dotların 375 nm eksitasyon da 530 nm emisyonu sahip olduğunu göstermektedir .



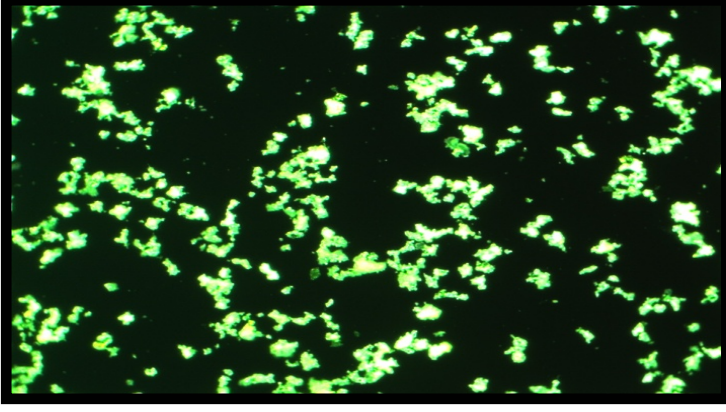
Şekil 4.21 CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların Floresans ve Absorbsiyon spektroskopisi sonucu.

4.3.4 Floresans Mikroskobu Sonuçları

CdSe/CdS kuantum dot ve CdSe/CdS kuantum dot-mannoz triflat-sisteamin'in Floresans mikroskobu görüntüleri Şekil 4.22, 4.23, 4.24 ve 4.25'de verilmiştir. Kuantum dotların mannoz triflat-sisteamin bileşiği ile konjugasyonu renklerinde farklanmaya neden olmuştur.



Şekil 4.22 CdSe/CdS kuantum dotların 5X büyütmede Floresans mikroskobu görüntüsü.



Şekil 4.23 CdSe/CdS kuantum dotların 10X büyütmede Floresans mikroskobu görüntüsü.



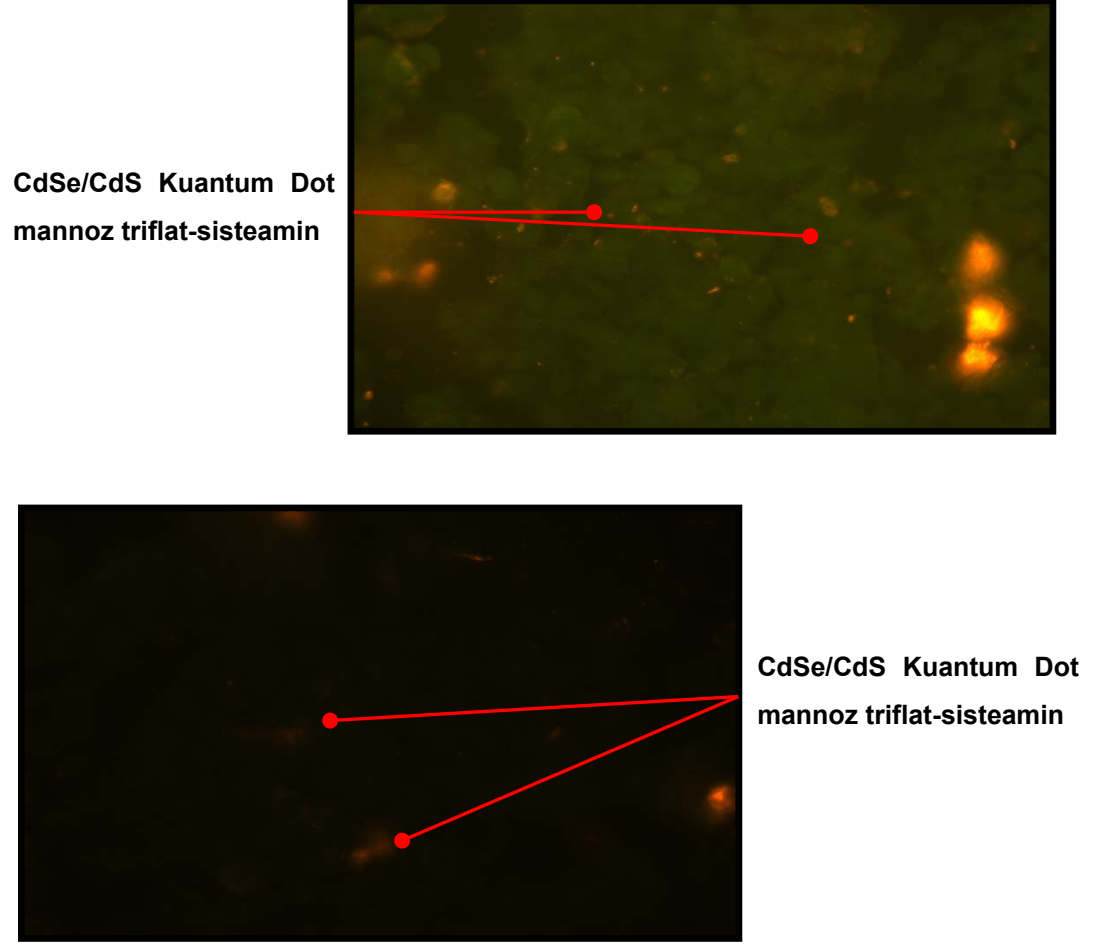
Şekil 4.24 MTS konjuge CdSe/CdS kuantum dotların 5X büyütmede Floresans mikroskobu görüntüsü.



Şekil 4.25 MTS konjuge CdSe/CdS kuantum dot 10X büyütmede Floresans mikroskobu görüntüsü.

4.4 Hücre Kültürü Çalışmaları Sonuçları

4.4.1 Hücre Görüntüleme Çalışması Sonuçları



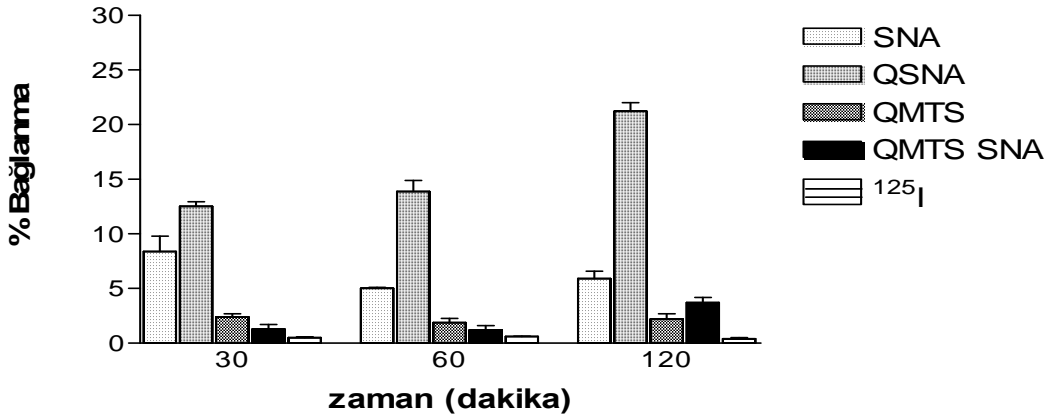
Şekil 4.26 MTS konjuge CdSe/CdS kuantum dotların MCF-7 hücreleri üzerindeki görüntüsü.

4.4.2 Biyoaffinite Çalışması Sonuçları

4.4.2.1 I-125 İşaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA'nın MCF-7 Hücrelerindeki Bağlanma Etkinliğinin Zamanla Değişimi

Çizelge 4.5 ^{125}I -Q-SNA, ^{125}I -SNA, ^{125}I -Q-MTS, ^{125}I -Q-MTS-SNA ve ^{125}I 'in MCF-7 hücreleri üzerindeki % bağlanmanın zamanla değişimi.

Zaman	^{125}I -Q-SNA	^{125}I -SNA	^{125}I -Q-MTS	^{125}I -Q-MTS-SNA	^{125}I
30.dakika	% 12.5±1.1	% 8.4±3.4	% 2.4±0.7	% 1.3±1.0	% 0,5±0,2
60.dakika	% 13.9±2.4	% 5.0±0.3	% 1.9±0.9	% 1.2±1.0	% 0,6±0,1
120.dakika	% 21.2±2.0	% 5.9±1.7	% 2.2±1.2	% 3.7±1.2	% 0,4±0,3



Şekil 4.27 ^{125}I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ^{125}I 'in MCF 7 hücrelerine 30, 60 ve 120. dakikalarda bağlanma oranları.

Gruplar kendi içlerinde zamana göre karşılaştırıldığında Q-SNA'nın 30.dk, 60.dk ve 120.dk daki bağlanma oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği görülmektedir. SNA MCF-7 hücrelerine spesifiklik göstermektedir. Özellikle 30. dk da bağlanma % si yüksektir. Ancak lektinlerin kuantum dotlarla konjugasyonu bağlanma verimini en az 2 kat arttırmıştır. Bunun yanı sıra Q-MTS-SNA'nın ise bağlanma oranlarının Q-SNA'ya göre oldukça düşük olduğu görülmektedir. Kuantum dotlara şeker bağlandığında lektinin hücreler üzerindeki aktivitesi düşmektedir. Şekerin lektinle hücre arasındaki etkileşimi sağlayan mekanizmalara girişim yaparak bozduğu düşünülmektedir.

Bazı tümöre spesifik lektinlerin şeker reseptörlerine affinitelerinin iyodun nükleofilik süstitüsyonu ile elde edilen siklodekstrin türevlerince inhibe edildiği rapor edilmiştir (Andre et al., 2004).

İyodinasyonun lektinlerin bağlanma oranlarını etkilediğine dair raporlar vardır (Ribeiro et al., 2010). Ribeiro ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada lektinlerin ilaç hedeflemede kullanılabileceğini ve iodo/azido-süstitüe laktoz türevlerinin göreceli olarak daha aktif olduklarını rapor etmişlerdir. Ayrıca hücre tipine görede farklılık olduğu rapor edilmiştir.

Lektinlerin Kuantum dot nanoparçacıklara bağlanması ile ilgili literatürde başka bir çalışma mevcut değildir. Nanoparçacıklara takılan lektinler ile ilgili ise Barrientos V.album agglutinin isimli lektini iodojen yöntemi kullanarak ¹²⁵I ile işaretlenmiş ve artan laktoz konsantrasyonunun altın nanoparçacıklara takılan lektinlerin reseptör ligand etkileşimini arttırabileceğini rapor etmişlerdir (Barrientos et al., 2009).

Çizelge 4.6 MCF-7 Hücrelerine Bağlanma Oranlarının Zamanla Değişimine Ait İstatistiksel Veriler.

Parameter	Value	Data Set-B	Data Set-C	Data Set-D
Table Analyzed				
Data Table-1				
One-way analysis of variance				
P value	P<0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	5			
F	21.69			
R squared	0.8967			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	468.6	4	117.1	
Residual (within columns)	54.01	10	5.401	
Total	522.6	14		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
SNA vs QSNA	-9.433	7.031	P < 0.01	-15.68 to -3.189
SNA vs QMTS	4.267	3.180	P > 0.05	-1.978 to 10.51
SNA vs QMTS SNA	4.367	3.255	P > 0.05	-1.878 to 10.61
SNA vs 125I	5.933	4.422	P > 0.05	-0.3110 to 12.18
QSNA vs QMTS	13.70	10.21	P < 0.001	7.456 to 19.94
QSNA vs QMTS SNA	13.80	10.29	P < 0.001	7.556 to 20.04
QSNA vs 125I	15.37	11.45	P < 0.001	9.122 to 21.61
QMTS vs QMTS SNA	0.1000	0.07453	P > 0.05	-6.144 to 6.344
QMTS vs 125I	1.667	1.242	P > 0.05	-4.578 to 7.911
QMTS SNA vs 125I	1.567	1.168	P > 0.05	-4.678 to 7.811

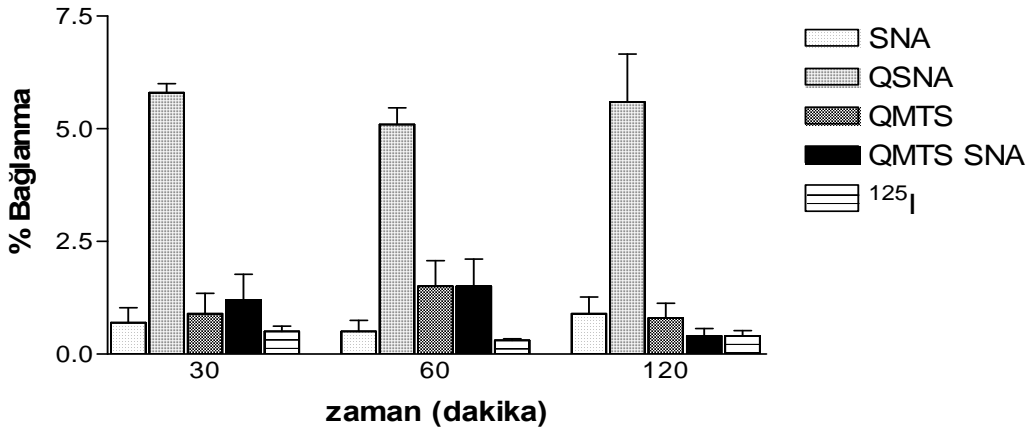
Q-SNA'nın bağlanma oranında Q-MTS, QMTS-SNA ve ^{125}I 'e göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.0001$).

Q-SNA'nın bağlanma oranında SNA'a göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.01$).

4.4.2.2 I-125 İşaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA'nın Caco-2 Hücrelerindeki Bağlanma Etkinliğinin Zamanla Değişimi

Çizelge 4.7 ^{125}I -Q-SNA, ^{125}I -SNA, ^{125}I -Q-MTS, ^{125}I -Q-MTS-SNA ve ^{125}I 'in Caco-2 hücreleri üzerindeki % bağlanmanın zamanla değişimi.

Zaman	^{125}I -Qdot-SNA	^{125}I -SNA	^{125}I -Qdot-MTS	^{125}I -Qdot-MTS-SNA	^{125}I
30.dakika	% 5.8±0.5	% 0.7±0.8	% 0.9±1.1	% 1.2±1.4	% 0.5±0.3
60.dakika	% 5.1±0.9	% 0.5±0.6	% 1.5±1.4	% 1.5±1.5	% 0.3±0.1
120.dakika	% 5.6±2.6	% 0.9±0.9	% 0.8±0.8	% 0.4±0.4	% 0.4±0.3



Şekil 4.28 ^{125}I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ^{125}I in Caco-2 hücrelerine 30, 60 ve 120. dakikalarda bağlanma oranları.

Gruplar kendi içlerinde zamana göre karşılaştırıldığında Q-SNA'nın 30.dk, 60.dk ve 120.dk daki bağlanma oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği görülmektedir. Ayrıca tek başına SNA'nın caco-2 hücrelerine bir spesifikliğı bulunmamaktadır. Ancak kuantum dotlarla konjugasyonları bağlanma % sini ciddi ölçüde arttırmıştır.

Çizelge 4.8 Caco-2 Hücrelerine Bağlanma Oranlarının Zamanla Değişimine Ait İstatistiksel Veriler.

Parameter	Value	Data Set-B	Data Set-C	Data Set-D
Table Analyzed				
CACO zaman				
One-way analysis of variance				
P value	P<0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	5			
F	104.2			
R squared	0.9766			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	53.90	4	13.48	
Residual (within columns)	1.293	10	0.1293	
Total	55.20	14		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
SNA vs QSNA	-4.800	23.12	P < 0.001	-5.766 to -3.834
SNA vs QMTS	-0.3667	1.766	P > 0.05	-1.333 to 0.5997
SNA vs QMTS SNA	-0.3333	1.605	P > 0.05	-1.300 to 0.6330
SNA vs 125I	0.3000	1.445	P > 0.05	-0.6663 to 1.266
QSNA vs QMTS	4.433	21.35	P < 0.001	3.467 to 5.400
QSNA vs QMTS SNA	4.467	21.51	P < 0.001	3.500 to 5.433
QSNA vs 125I	5.100	24.56	P < 0.001	4.134 to 6.066
QMTS vs QMTS SNA	0.03333	0.1605	P > 0.05	-0.9330 to 0.9997
QMTS vs 125I	0.6667	3.211	P > 0.05	-0.2997 to 1.633
QMTS SNA vs 125I	0.6333	3.050	P > 0.05	-0.3330 to 1.600

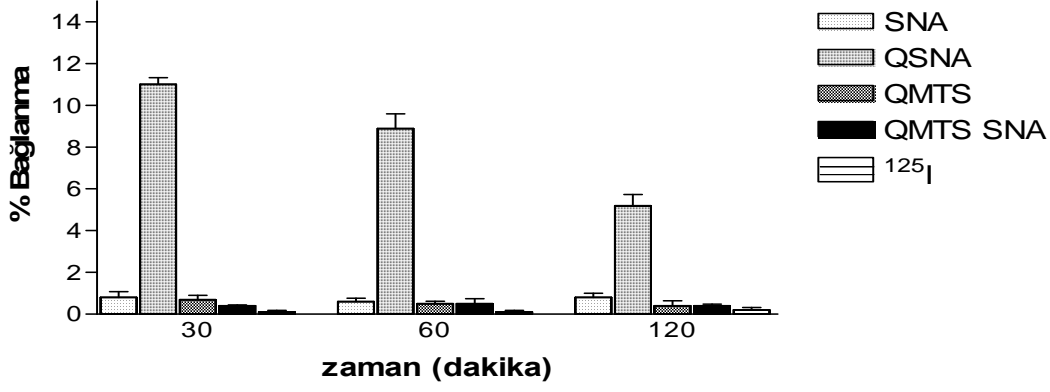
Q-SNA'nın bağlanma oranında Q-MTS, QMTS-SNA ve ^{125}I 'e göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.0001$).

Q-SNA'nın bağlanma oranında SNA'a göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.01$).

4.4.2.3 I-125 İşaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA'nın A-549 Hücrelerindeki Bağlanma Etkinliğinin Zamanla Değişimi

Çizelge 4.9 ^{125}I -Q-SNA, ^{125}I -SNA, ^{125}I -Q-MTS, ^{125}I -Q-MTS-SNA ve ^{125}I 'in A-549 hücreleri üzerindeki % bağlanmanın zamanla değişimi.

Zaman	^{125}I -Q-SNA	^{125}I -SNA	^{125}I -Q-MTS	^{125}I -Q-MTS-SNA	^{125}I
30.dakika	% 11±0.8	% 0.8±0.7	% 0.7±0.5	% 0.4±0.1	% 0.1±0.2
60.dakika	% 8.9±1.7	% 0.6±0.4	% 0.5±0.3	% 0.5±0.6	% 0.1±0.2
120.dakika	% 5.2±1.3	% 0.8±0.5	% 0.4±0.6	% 0.4±0.2	% 0.2±0.3



Şekil 4.29 ^{125}I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ^{125}I ' in A-549 hücrelerine 30, 60 ve 120. dakikalarda bağlanma oranları.

Aynı şekilde lektinler tek başlarına A-549 hücrelerine karşı spesifiklik göstermezler. Kuantum dotlarla konjuge edilerek bağlanma verimlerini arttırmışlardır. Zamana bağlı olarak bağlanma verimleri incelendiğinde tüm örnekler için optimum zaman 30 dk olarak belirlenmiştir. Q-SNA'nın bağlanma verimi bu hücreler için giderek azalmaktadır.

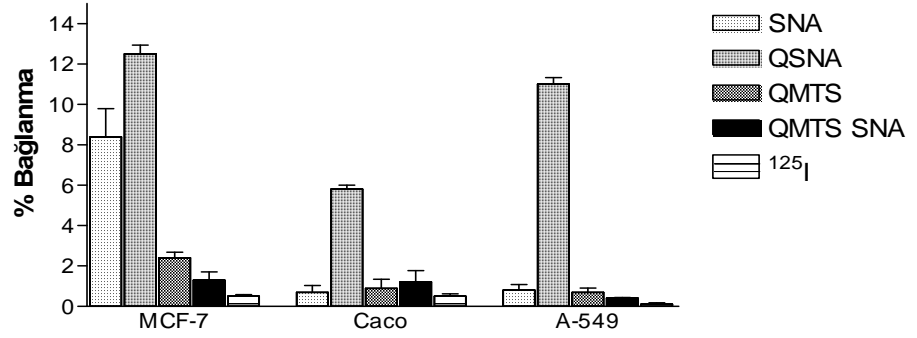
Çizelge 4.10 A-549 Hücrelerine Bağlanma Oranlarının Zamanla Değişimine Ait İstatistiksel Veriler.

Parameter	Value	Data Set-B	Data Set-C	Data Set-D
Table Analyzed				
A-549 zaman				
One-way analysis of variance				
P value	P<0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	5			
F	21.73			
R squared	0.8968			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	150.7	4	37.67	
Residual (within columns)	17.33	10	1.733	
Total	168.0	14		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
SNA vs QSNA	-7.633	10.04	P < 0.001	-11.17 to -4.096
SNA vs QMTS	0.2000	0.2631	P > 0.05	-3.338 to 3.738
SNA vs QMTS SNA	0.3000	0.3947	P > 0.05	-3.238 to 3.838
SNA vs 125I	0.6000	0.7894	P > 0.05	-2.938 to 4.138
QSNA vs QMTS	7.833	10.31	P < 0.001	4.296 to 11.37
QSNA vs QMTS SNA	7.933	10.44	P < 0.001	4.396 to 11.47
QSNA vs 125I	8.233	10.83	P < 0.001	4.696 to 11.77
QMTS vs QMTS SNA	0.1000	0.1316	P > 0.05	-3.438 to 3.638
QMTS vs 125I	0.4000	0.5262	P > 0.05	-3.138 to 3.938
QMTS SNA vs 125I	0.3000	0.3947	P > 0.05	-3.238 to 3.838

Q-SNA'nın bağlanma oranında Q-MTS, QMTS-SNA ve ^{125}I 'e göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.0001$).

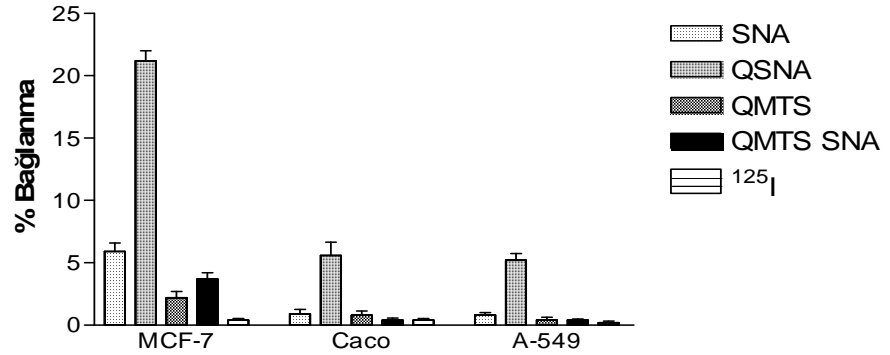
Q-SNA'nın bağlanma oranında SNA'a göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.01$).

4.4.2.4 I-125 İşaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA'nın MCF-7, Caco-2 ve A-549 Hücrelerindeki Bağlanma Etkinliğinin Karşılaştırılması



Şekil 4.30 ^{125}I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ^{125}I ' in A-549, MCF-7 ve Caco-2 hücrelerine 30. dakikada bağlanma oranları.

Burada lektinin MCF-7 ye spesifik olduğu görülmektedir. Kuantum dotlar lektinin bu spesifikliğini azaltmakta ancak kuantum dotlarla konjugasyon bağlanma % sini arttırmaktadır. Öte yandan ise şeker konjugasyonu lektinlerin hem spesifikliklerini hemde bağlanma verimlerini ciddi ölçüde azaltmaktadır. Lektinler için optimum zaman 30. dk olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.31 ^{125}I işaretli SNA, Q-SNA, Q-MTS, Q-MTS-SNA örneklerinin ve ^{125}I ' in A-549, MCF-7 ve Caco-2 hücrelerine 120. dakikada bağlanma oranları.

30.dk SNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve Caco hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.001$).

30.dk SNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve A-549 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.001$).

30.dk QSNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve Caco hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.001$).

30.dk QSNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve A-549 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.05$).

30.dk QMTS'nın bağlanma oranında MCF-7 ve Caco hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.05$).

30.dk QMTS'nın bağlanma oranında MCF-7 ve A-549 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.01$).

120.dk SNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve Caco hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.001$).

120.dk SNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve A-549 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.001$).

120.dk QSNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve Caco hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.001$).

120.dk QSNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve A-549 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.001$).

120.dk QMTS'nın bağlanma oranında MCF-7 ve Caco hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.05$).

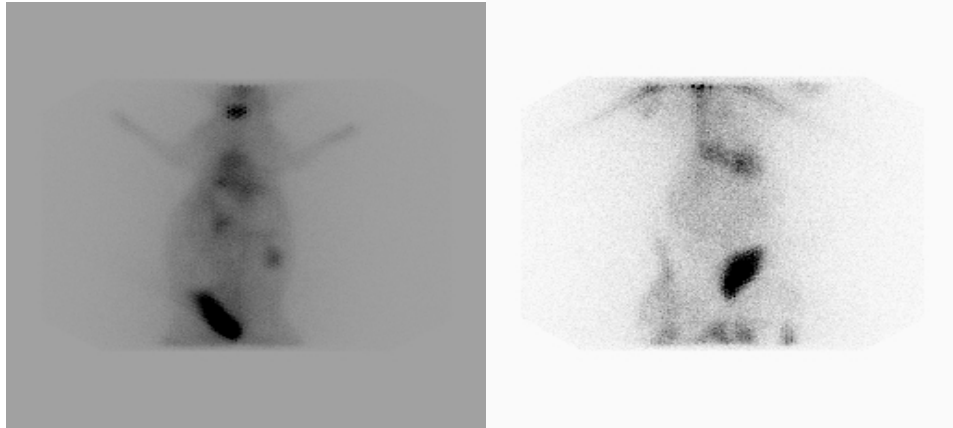
120.dk QMTS'nın bağlanma oranında MCF-7 ve A-549 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.01$).

120.dk QMTSSNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve Caco hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.001$).

120.dk QMTSSNA'nın bağlanma oranında MCF-7 ve A-549 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.001$).

4.5 Tavşanlarda Görüntüleme Çalışması Sonuçları

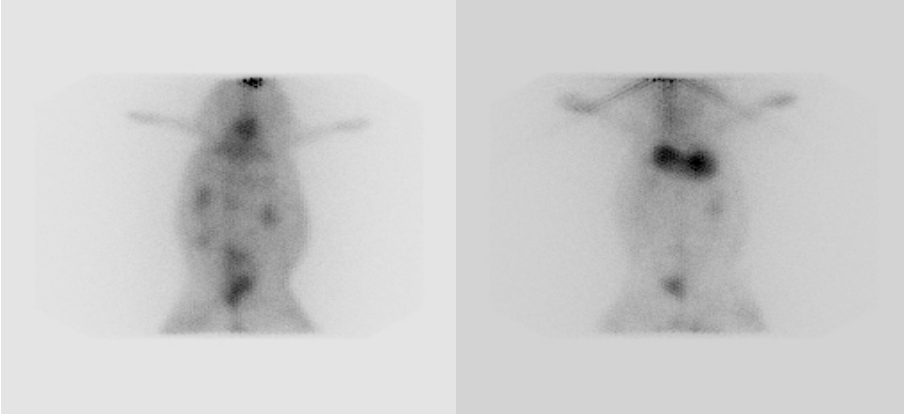
Tavşanlar üzerinde yapılan görüntüleme çalışmaları bölüm 3’de açıklanan koşullarda gama kamera ile yapıldı. Görüntüleme çalışmaları ^{125}I ’un gama ışını foton enerjisinin görüntüleme için çok düşük enerjide olması nedeniyle ^{131}I ile gerçekleştirildi. Yarım saat içinde tüm işaretli örneklerin böbrekler yanında karaciğer ve kalpte biriktiği gözlemlendi. 24 saatte böbrekler ve mesanede önemli bir aktivite kalmazken kalp ve karaciğerde background aktivitesi olarak alınan kastaki aktiviteye göre önemli miktarda tutulum gözlemlendi. Ancak işaretli ligandların kalp ve karaciğerdeki aktivitelerinin kas aktivitesine oranı birbirinden farklılıklar gösterdi. SNA konjuge kuantum dot nanoparçacıklar daha çok kalpte birikim gösterirken şeker konjuge kuantum dot nanoparçacıklar karaciğerde tutuldu. Çeşitli ligandlar ile konjuge CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkların karaciğer kanser metastazlarının görüntülenmesinde kullanılabileceğine dair literatür bilgisi mevcuttur. Örneğin Schipper ve arkadaşları Cu-64 işaretli CdSe kuantum dotların mikroPETCT ile karaciğer metastazlarının görüntülenmesinde kullanılabilirliğini incelemiştir (Schipper et al., 2007). Bunun dışında kuantum dotların sentinel lenf nodu görüntülenmesinde, anjiogenesis görüntülenmesinde, metastatik hücre görüntülenmesinde, tümör hedeflenmesinde kullanılabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (Bentolila et al., 2009).



(a)

(b)

Şekil 4.32 ^{131}I işaretli SNA-CdSe/CdS kuantum dotların tavşanda gama kamera görüntüleri: (a) 30.dakika, (b) 24.saat.

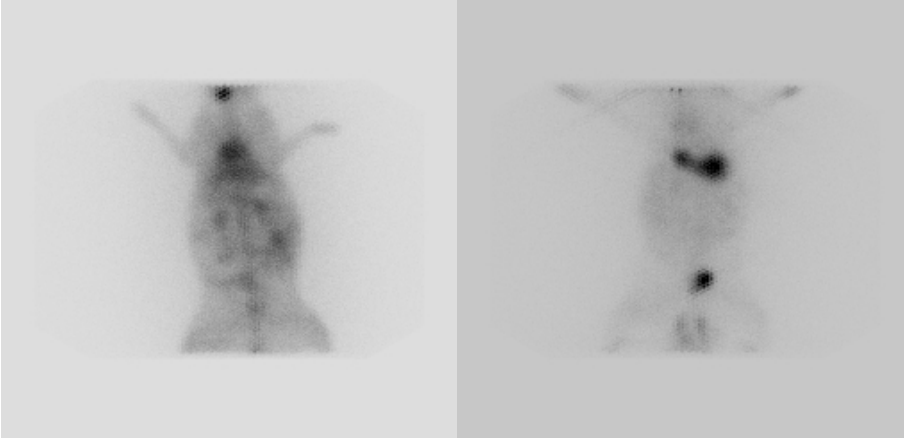


(a)

(b)

Şekil 4.33 ^{131}I işaretli MTS-SNA-CdSe/CdS kuantum dotların tavşanda gama kamera görüntüleri:

(a) 30.dakika, (b) 24.saat.



(a)

(b)

Şekil 4.34 ^{131}I işaretli MTS-CdSe/CdS kuantum dotların tavşanda gama kamera görüntüleri: (a)

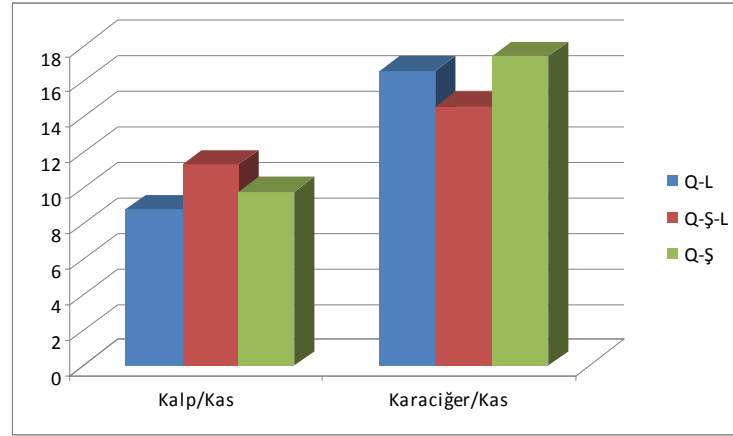
30.dakika, (b) 24.saat.

Çizelge 4.11 ^{131}I işaretli Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA örneklerine ait 30. dakikada tavşanlardaki dağılım oranları.

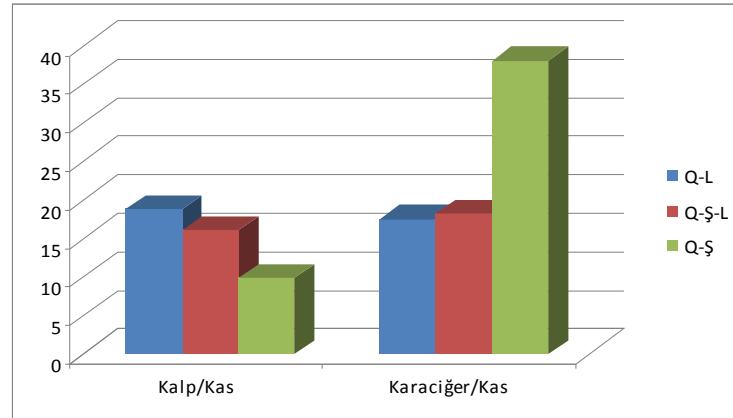
30.DK	Q-SNA	Q-MTS-SNA	Q-MTS
Kalp/Kas	8.80	10.29	9.80
Karaciğer/Kas	16.59	14.58	17.43

Çizelge 4.12 ^{131}I işaretli Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA örneklerine ait 24. saat tavşanlardaki dağılım oranları.

24.SAAT	Q-SNA	Q-MTS-SNA	Q-MTS
Kalp/Kas	18.71	16.02	9.80
Karaciğer/Kas	17.51	18.15	38.01



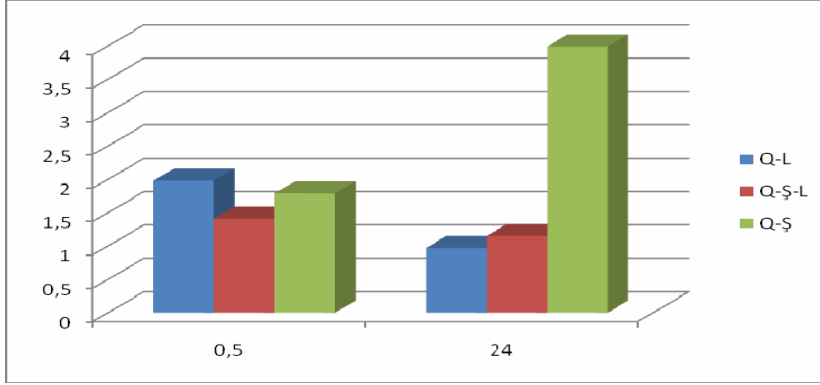
Şekil 4.35 ^{131}I işaretli Q-SNA, Q-MTS VE Q-MTS-SNA örneklerinin 30. dakikada tavşanlardaki dağılım oranları.



Şekil 4.36 ^{131}I işaretli Q-SNA, Q-MTS VE Q-MTS-SNA örneklerinin 24.saatte tavşanlardaki dağılım oranları.

Çizelge 4.13 ^{131}I işaretli Q-SNA, Q-MTS ve Q-MTS-SNA örneklerine ait 24. saat tavşanlardaki dağılım oranları

Karaciğer/Kalp	Q-SNA	Q-MTS-SNA	Q-MTS
0.5 saat	1.98	1.41	1.79
24 saat	0.97	1.15	3.99



Şekil 4.37 ^{131}I işaretli Q-SNA, Q-MTS VE Q-MTS-SNA örneklerinin 0,5.saat ve 24. saat te tavşanlarda karaciğer/kalp oranı.

Lektin bağlı manyetik nanoparçacıkların kanserin MRI ile görüntülenmesinde kullanılabilirliği üzerine yakın zamanda El-Boubbou ve arkadaşları gerçekleştirmiş oldukları çalışmada , kanser hücrelerinde var olan ve kanserin oluşumundan ve metastazdan sorumlu endojen lektinlerin manyetik nanoparçacıklar ile hedeflenmesi halinde kanserin MRI ile görüntülenmesinde ve terapisinde kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (El-Boubbou et al., 2010).

Bu çalışmada ise kalıcı floresan özellik gösteren kuantum dot nanoparçacıklar lektinlere konjuge edilmiş ve kanser hücrelerine affinitesinin arttığı görülmüştür. İlaveten yapıya dahil edilen radyoiod kanser hücrelerinin hem görüntülenmesinde hem de terapisinde çok etkili bir araç olabilecektir. İyodun ^{123}I gibi ideal görüntüleme radyonüklidlerinin yanı sıra ^{131}I gibi ideal terapi radyonüklidlerinde bulunması nedeni ile radyoiod işaretli lektin bağlı kuantum dot nanoparçacıklar hem görüntüleme hem de terapi için uygun ajanlar olabilecektir. ^{125}I bağlı nanokonjugatlar ise ^{125}I 'in nispeten uzun yarıömrü, düşük enerjili gama ışınması nedeniyle bu sistemlerden *in vivo* biyosensör sistemler geliştirilmesinde çok yararlı dedeksiyon araçları olabilirler.

Kanser diagnostiğinde, proteomik çalışmalarda önemli bir yer tutan protein mikroarray'lerin ve chip'lerin tasarlanmasında, kuantum dotların kullanımı oldukça yaygındır. Bu yapıların, stabil bir şekilde farklı substratların yüzeyinde fabrikasyonları, biyokonjugasyonların izlenebilmesi açısından önemlidir (Gokarna et al., 2008, Zajac et al., 2007).

Yürüttüğümüz başka bir çalışmada sentezlenen CdSe/CdS kuantum dotlar direkt, sol-jel ile ve tween 20 ile karıştırılarak mikroskop slaytlarının yüzeyine Biorobotics Microgrid spotter ile spotlanmıştır. Elde edilen spotlar Sensovation CCD-kamera ile görüntülenmiştir. Daha sonra bu spotlama işlemi sırasında spotter içindeki çevresel koşullar (sıcaklık, nem, basınç), spot sayısı ve konfigürasyonu, spotlar arası mesafe, spotter iğnesinin yıkama zamanı, iğnenin uygulanan yüzey üzerinde kalma zamanı, iğnenin örnek içerisine girme derinliği ve örnek içerisinde kalma zamanı optimize edilmiştir. Optimum koşullarda spotter iğnesinin her örnekle dolduğunda homojen olarak kaç spot yapabildiği belirlenmiştir. Ayrıca sol-jel ile karıştırılan kuantum dotlarda yüzey modifikasyonuna bağlı olarak floresans özelliklerinde oluşan farklanma floresans mikroskobu ile belirlenmiştir (Akça vd., 2010).

Hazırlanan kuantum dotlar kanser diagnostiğinde kullanım potansiyeli bulunan mikroarray platformlarında kombine edilmiştir ve bu çalışma için uygunluğu belirlenmiştir. Kanser hücrelerine spesifik bağlanabilecek biyokonjugatların hazırlanarak spotların oluşturması bir sonraki aşamayı oluşturmaktadır. Model olarak hazırlanan konjugatlar CdSe/CdS Kuantum dot-BSA ve CdSe/CdS Kuantum dot-Glu'dur. Optimize edilen bu koşullarda kuantum dotlar farklı biyomoleküllerle konjuge edilerek spotlar oluşturulacak ve biyolojik örneklerdeki (serum, plazma, vücut sıvıları) pg/ml gibi çok düşük konsantrasyonlarındaki kanser markerlarının belirlenmesinde oldukça büyük öneme sahip mikroarray'ler elde edilebilecektir (Akça vd., 2010).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Klasik sentez prosedürlerinden farklı olarak, yüksek foto kararlılığa sahip, suda çözülebilir CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıkları sentezlemek için kolay hazırlanabilir reaktiflerin ve basit malzemelerin kullanıldığı yeni bir yöntem kullanılmıştır. SEM ve AFM görüntüleri ile bu parçacıkların oldukça küçük nano boyutlarda (7-12nm) olduğu açıkça görülmüştür. Bu da, kuantum dot nanoparçacıklara vücudun birçok bölgesine erişebilme potansiyelinin yüksek olmasından dolayı hastalığı bulma ve tedavi etme imkanı vermektedir.

CdSe/CdS kuantum dot nanoparçacıklar, mannoz triflat-sisteamin gibi bir prokürsör şeker molekülü ile ve SNA lektini ile konjuge edilmiş ve ¹²⁵I ve ¹³¹I ile hem nükleofilik hem elektrofilik yöntem ile işaretlenmiştir. İşaretlenme potansiyeli TLRC analiz yöntemi ile değerlendirilmiş, %95'in üzerinde bir işaretleme verimi bulunmuştur. SNA lektini I-125 ile %100 verimle iyotlanabilmiştir.

I-125 işaretli örnekler, MCF-7, Caco-2 ve A-549 kanser hücre hatları üzerine uygulandığında hücreler tarafından farklı bağlanma oranlarında tutulduğu görülmektedir. I-125 işaretli Q-MTS, SNA, Q-SNA ve Q-MTS-SNA, I-125 ile kıyaslandığında aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlılık içermektedir. I-125 işaretli SNA lektini meme kanser hücresi olan MCF-7 hücrelerine , akciğer kanser hücresi olan A-549 ve kolon kanser hücresi olan Caco-2' ye göre istatistiksel olarak da anlamlı bir şekilde yüksek oranda bağlanabilmektedir. Buda SNA lektininin MCF-7 hücrelerine spesifik olduğunu göstermektedir. Kuantum dotlar ile bu lektinlerin konjugasyonu ise MCF-7 hücre hatlarına olan bu spesifikliği azaltmış ancak bunun yanı sıra bağlanma oranlarını en az 2 kat arttırmıştır. SNA konjuge kuantum dot nanoparçacıklar tüm hücre hatları için karşılaştırıldığında oldukça yüksek bağlanma oranlarına sahiptir ancak en yüksek bağlanma yine MCF-7 hücreleri üzerinde görülmektedir. Çalışmanın bundan sonraki aşamasında normal meme epitel hücrelerine de SNA'nın affinitesi incelenmelidir. Ayrıca özellikle kuantum dot bağlı biyokonjugatların hem normal hem kanser hücrelerindeki toksik özelliklerinin incelenmesi bu parçacıklarının çevresel etkilerinin ve ilaç potansiyelinin anlaşılması açısından önemlidir.

I-131 işaretli şeker ve lektin konjuge kuantum dot nanoparçacıklar tavşana enjekte edilip gama kamera görüntüsü alındığında 24 saatte böbrekler ve mesanede önemli bir aktivitenin kalmadığı kalp ve karaciğerde önemli miktarda tutulum gözlemlendi. Ancak işaretli ligandların kalp ve karaciğerdeki aktivitelerinin kas aktivitesine oranı birbirinden farklılıklar gösterdi. SNA konjuge kuantum dot nanoparçacıklar daha çok kalpte birikim gösterirken şeker konjuge kuantum dot nanoparçacıklar karaciğerde tutuldu. Bu durum 24.saat sonunda bile kalp ve karaciğerde etkili görüntülerin alınabileceğini göstermiştir. Buda, I-131 işaretli şeker ve lektin konjuge kuantum dot nanoparçacıkların lenf nodu görüntülenmesinde, anjiogenesis görüntülenmesinde, metastatik hücre görüntülenmesinde, tümör hedeflenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ahuja, S.**, 2006, High-pressure liquid chromatography, *Comprehensive Analytical Chemistry*, 47(15): 485 – 559pp.
- Akça, Ö., Özdemir, Ç., Ünak, P. and Timur, S.**, 2010, CdSe/CdS Kuantum Dot Spotların Hazırlanması ve Biyokonjugasyona Bağlı Bazı Özelliklerinin İncelenmesi , 24. *Ulusal Kimya Kongresi*, Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak.
- Andre, S., Kaltner, H., Fruike, T. and Nishimura, S.-I.**, 2004, Persubstituted Cyclodextrin-Based Glycoclusters as Inhibitors of Protein-Carbohydrate Recognition Using Purified Plant and Mammalian Lectins and Wild-Type and Lectin-Gene-Transfected Tumor Cell as Targets, *Bioconjugate Chemistry*, 15, 87 – 98pp.
- Aşıkoğlu, M., Yurt, F., Çağlayan, O., Ünak, P. and Özkılıç, H.**, 2000, Detecting Inflammation with ¹³¹I-labeled Ornidazole, *Appl. Radiat. Isot.*, 53, 411-413pp.
- Avcıbaşı, U., Avcıbaşı, N., Ünak, T., Ünak, P., Müftüler, F.Z., Yıldırım, Y., Dinçalp, H., Gümüşer, F.G. and Rükşen, E.**, 2008, Metabolic comparison of radiolabeled aniline- and phenol-phthaleins with ¹³¹I, *Nucl Med.Biol.* 35(4), 481-492pp.
- Babu, P., Sinha, S. and Surolia, A.**, 2007, Sugar-Quantum Dot Conjugates for a Selective and Sensitive Detection of Lectins, *Bioconjugate Chemistry*, 18(1): 146-151pp.
- Barrientos, A.G., De la Fuente, J.M., Jimenez, M., Solis, D., Canada, F.J., Martin-Lomas, M. and Penades, S.**, 2009, Modulating glycosidase degradation and lectin recognition of gold glyconanoparticles, *Carbohydrate Research*, 344(12): 1474-1478pp.
- Bentolila, L.A, Ebenstein, Y. and Weiss, S.**, 2009, Quantum Dots for In Vivo Small-Animal Imaging *Journal Of Nuclear Medicine*, 50(4): 493-496pp.
- Chan, C.W, Maxwell, D.J., Gao, X. and Bailey, R.E.**, 2002, Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging, *Current Opinion in Biotechnology*, 13:40-46pp.
- Choi, H.S., Liu, W., Misra, P., Tanaka, E., Zimmer, J.P., Ipe, B.I., Bawendi, M.G. and Frangioni, J.V.**, 2007, Renal clearance of quantum dots, *Nature Biotechnology*, 25, 1165-1170pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dabbousi, B.O., Rodriguez-Viejo, J., Mikulec, F.V., Heine, J.R., Mattoussi, H., Ober, R., Jensen, K.F. and Bawendi, M.G.,** 1997, (CdSe)ZnS Core-Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites, *The Journal of Physical Chemistry*, 101, 9643-9475pp.
- Deng, D.-W., Yu, J.-S. and Pan, Y.,** 2006, Water-soluble CdSe and CdSe/CdS nanocrystals: A greener synthetic route, *Journal of Colloid and Interface Science*, 299: 225 – 232pp.
- Deutscher, S.L., Figueroa, S.D. and Kumar, S.A.,** 2009, Tumor targeting and SPECT imaging properties of an ¹¹¹In-labeled galectin-3 binding peptide in postate carcinoma, *Nuclear Medicine and Biology*, 36(2) 137-146pp.
- Djozan, D., Baheri, T., Karimian, G. and Shahidi, M.,** 2008, Forensic Discrimination Of Blue Ballpoint Pen Inks Based On Thin Layer Chromatography And Image Analysis, *Forensic Science International* 179, 199–205pp.
- Doğan M.,** 2001, Yüzey Analiz Teknikleri Ders Notları, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü*, Ankara.
- El-Boubbou, K., Zhu, D.C., Vasileiou, C., Borhan, B., Prospero, D., Li, W. and Huang, X.F.,** 2010, Magnetic Glyco-Nanoparticles: A Tool To Detect, Differentiate, and Unlock the Glyco-Codes of Cancer via Magnetic Resonance Imaging, *Journal of the American Chemical Society*, 132:(12) 4490-4499pp.
- Foulon, C.F., Reist, C.J., Bigner, D.D. and Zalutsky, M.R.,** 2000, Radioiodination via D-amino acid peptide enhances cellular retention and tumor xenograft targeting of an internalizing anti-epidermal growth factor receptor variant III monoclonal antibody, *Cancer Research*, 60(16) 4453-4460pp.
- Gokarna, A., Jin, L-H., Hwang, J-S., Cho, Y-H., Lim, Y-T., Chung, B-H., Youn, S-H., Choi, D-S., Lim, J-H.,** 2008, Quantum dot-based protein micro- and nanoarrays for detection of prostate cancer biomarkers, *Proteomics*, 8, 1809–1818pp.
- Galian, R.E. and Guardia, M.,** 2009, The use of quantum dots in organic chemistry, *Trends in Analytical Chemistry*, 28:3p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gao, X., Yang, L., Petros, J.A., Marshall, F.F., Simons, J.W. and Nie, Shuming.,** 2005, In vivo molecular and cellular imaging with quantum dots, *Current Opinion in Biotechnology*, 16:63-72pp.
- Gillies, J.M., Prenanta, C., Chimona, G.N., Smethursta, G.J., Perriec, W., Hambletta I., Dekkera B. and Zweit J.,** 2006, Microfluidic reactor for the radiosynthesis of PET radiotracers, *Applied Radiation and Isotopes*, 325–332pp.
- Gordon, A.T., Lutz, G.E. and Haselton, F.R.,** 2007, Introduction to nanotechnology: potential applications in physical medicine and rehabilitation, *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 86: 225-38pp.
- Grillini, P.M.,** 2006, Thin-layer chromatography, *Comprehensive Analytical Chemistry*, 47(13): 413 – 442pp.
- Gündüz, T.,** 1999, Instrümental Analiz, Gazi Kitapevi, 5. Baskı, 1115 – 1273s.
- Jain, K.K.,** 2005, Nanotechnology in clinical laboratory diagnostics, *Clinica Chimica Akta*, 358:37-54pp.
- Jayagopal, A., Russ, P.K. and Haselton, F.R.,** 2007, Surface Engineering of Quantum Dots for *In Vivo* Vascular Imaging, *Bioconjugate Chemistry*, 18, 1424-1433pp.
- Johnsson, R., Traff, G., Sunden, M. and Ellervik, U.,** 2007, Evaluation Of Quantitative Thin Layer Chromatography Using Staining Reagents, *Journal of Chromatography A*, 1164, 298–305pp.
- Kahn, M. and Kleinberg, J.,** 1977, Radiochemistry of Iodine, National Academy of Sciences-National Research Council, 25-34pp.
- Kowalsky, R.J. and Perry, J.R.,** 1987, Radiopharmaceuticals in Nuclear Medicine Practice Labeled Compounds, Vol. I. Vienna, *International Atomic Energy Agency*, 29:26765, 185-189pp.
- Macherey – Nagel.,** 2006, LC Applications.
- Medine E.İ.,** 2008, ^{125/131}I İşaretli Urasil'in Glukuronid Sentezi ve Manyetik Özellik Kazandırılarak Yeni Bir Manyetik İlaç Taşıyıcı Oluşturulması, *Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 23-24s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Medine, E.İ., Ünak, P., Sakarya, S. and Toksöz, F.**, 2010, Enzymatic Synthesis of Uracil Glucuronide, Labeling with $^{125/131}\text{I}$, and In vitro evaluation on Adenocarcinoma Cells, *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*, 25(3), 335-345s.
- Mulder, W.J.M., Koole, R., Brandwijk, R.J., Storm, G., Chin, P.T.K., Strijkers, G.J., Doneg, C.M., Nicolay, K. and Griffioen, A.W.**, 2006, Quantum Dots with a Paramagnetic Coating as a Bimodal Molecular Imaging Probe, *Nano Lett.*, 6(1): 1-6pp.
- Poole, C.P. and Owens, Jr.F.J.**, 2003, Introduction to nanotechnology, Hoboken, NJ: J.Wiley.
- Portakal, O.**, 2008, Biyolojik Ölçümler ve Nanopartiküller, *Türk Biyokimya Dergisi*, 33(1): 35-38s.
- Ribeiro, J.P., Andre, S., Canada, F.J., Gabius, H.J., Butera, AP., Alves, R.J. and Jimenez-Barbero, J.**, 2010, Lectin-Based Drug Design: Combined Strategy to Identify Lead Compounds using STD NMR Spectroscopy, Solid-Phase Assays and Cell Binding for a Plant Toxin Model, *ChemMedChem*, 5(3): 415-419pp.
- Schipper, M.L., Cheng, Z. and Lee, SW.**, 2007 MicroPET-based biodistribution of quantum dots in living mice, *Journal Of Nuclear Medicine*, 48(9):1511-1518pp.
- Skoog, D.A. and West, D. M.**, 1998, Fundamentals of Analytical Chemistry, 2. Baskı Türkçe çeviri.
- Soponar, F., Catalin A.M. and Sarbu, C.**, 2008, Quantitative Determination Of Some Food Dyes Using Digital Processing Of Images Obtained By Thin-Layer Chromatography, *Journal of Chromatography* , 1188, 295–300pp.
- Sun, L.-Y., Chu, T.-W., Wang, Y. and Wang, X.-Y.**, 2007, Radioiodination and biodistribution of PEG(y) lated YP13 polypeptide, *Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese*, 28(4) 621-626pp.
- Şensoy, S.**, 2007, Tc-99m (V) DMSA Radyofarmasötığının Üretim Ve Kalite Kontrol Parametrelerinin Belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 24-25s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Toksöz, F.**, 2009, ^{18}F İşaretli Magnetit Nanoparçacıkların Sentezi ve Biyo-Affinitelerinin İncelenmesi, *Y. Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir.*
- Theobald, A.E.**, 1989, Radipharaceuticals using radioactive compouns in pharmaceutics and Medicine, *Ellis Horwood Edition.*
- Ülgen, Ş.D.**, 2002, Atomik kuvvet mikroskopunun (AKM) nükleik asitler için moleküler sensör olarak kullanımı, *Y. Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.*
- Ünak, G.**, 2009, Nanobiyoteknolojik Yaklaşımlarla Hazırlanmış Modifiye altın Nanopartiküllerin Meme Kanser Hücre Kültürüne Uygulanması ve Biyoaffinitelerinin İncelenmesi, *Y. Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı.*
- Ünak, T. and Ünak, P.**, 1996, Direct Radioiodination of Metabolic 8-Hydroxy-Quinolyl-Glucuronide, as a Potential Anti-Cancer Drug, *Appl. Rad. Isot.*, 47, 7, 645-647pp.
- Ünak, T., Ünak, P. and Ongun, B.**, 1997, Synthesis and Iodine-125 Labelling of Glucuronide Compounds for Combined Chemo- and Radiotherapy of Cancer, *Appl. Radiat. Isot.*, 48, 6, 777-783pp.
- Ünak, T., Yıldırım, Y., Avcıbaşı, U., Biber, Z., Duman, Y. and Ünak, P.**, 2007, Comparison of the Radiopharmaceutical Potentials of Radiolabeled Dithiozone with ^{131}I and with $^{99\text{m}}\text{Tc}$, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 273, 3, 767-770pp.
- Vashist, S.K., Tewari, R., Bajpai, R.P., Bharadwaj, L.M. and Raiteri, R.**, 2006, Review of Quantum Dot Technologies for Cancer Detection and Treatment, *Journal of Nanotechnology*, 2.
- Wang, S., Jarrett, B.R., Kauzlarich, S.M. and Louie, A.Y.**, 2007, Core/Shell Quantum Dots with High Relaxivity and Photoluminescence for Multimodality Imaging, *Journal of the American Chemical Society*, 129(13): 3848-3856pp.
- Wu, X., Liu, H., Liu, J., Haley, K.N., Treadway, J.A., Larson, J.P., Ge, N., Peale, F. and Bruchez, M.P.**, 2002, Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots, *Nature Biotechnology*, 21, 41-46pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yurt, F.**, 1998, Benzodiazepin (DİAZEPAM) ve Cyclopyrrolone (ZOPİCLONE) Grubu Farmasötiklerin I-131 ile İşaretlenmesi, *Doktora Tezi, E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü*, 22-29s.
- Zajac, A., Song, D., Qian, W., Zhukov, T.**, 2007, Protein microarrays and quantum dot probes for early cancer detection, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* , 58, 309–314pp.
- Zor, L.**, 2000, Ayırma ve Saflaştırma İşlemleri, Ünite 11, *Anadolu Üniversitesi Yayınları*, 183-184s.

ÖZGEÇMİŞ

Özlet AKÇA

ozlet.akca@yahoo.com

Doğum Yeri : İZMİR
Doğum Tarihi : 27.04.1986

Eğitim

2008 - Devam Ege Üniversitesi, İzmir Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar A.B.D (Y.Lisans)
Kasım-Ocak 2009 (2 Ay) University of Applied Sciences Jena, Jena/Almanya (Y.Lisans tez çalışması)
2003 - 2008 Ege Üniversitesi, İzmir Biyokimya (Lisans)
1999 - 2003 Yunus Emre Anadolu Lisesi, İzmir

Staj Ege Üniversitesi Tülay Aktaş Onkoloji Hastanesi , Tıbbi Onkoloji Araştırma laboratuvarı, 2007, İzmir
Kent Hastanesi, Biyokimya laboratuvarı, 2008, İzmir

Bilgisayar Bilgisi Windows XP, MS Word, MS Excel, MS PowerPoint.

Dil bilgisi İngilizce (İyi Seviyede), Almanca (Orta Seviyede).

Kişisel Özellikler

Sorumluluk sahibi, çalışkan, araştırmacı, yeniliklere açık, dürüst, sabırlı, takım çalışmasına yatkın

Seminer ve Kurslar

- **Zaman Yönetimi**, Ü.E.M.T.E.M , 27.06.2008 (7 saat)
- **TS-EN ISO 22000 Güvenli Gıda Yönetim Sistemi** , Ü.E.M.T.E.M, 16.02.2009 (7 saat)
- **OHSAS 18001 İş Sağlığı ve Güvenliği İç Denetçisi**, Ü.E.M.T.E.M, 25-26.02.2009 (14 saat)
- **Etkili Sunuş Teknikleri**, Ü.E.M.T.E.M, 21.04.09 (6 saat)

Etkinlikler

- Biyokimyagerler Derneği üyeliği, 2010
- Kimyagerler Derneği üyeliği, 2010

İlgi Alanları

- Nanoteknoloji, Radyofarmasi, Biyoteknoloji.

Bilimsel toplantılarda yayınlanmış bildirileri**Ulusal;**

- **Özlet AKÇA**, Perihan ÜNAK, E.İlker MEDİNE, Serhan SAKARYA, Suna TİMUR, D-Penisilaminin Manyetik Nanoparçacıklara Konjugasyonu ve Floresan İşaret Takılarak MCF-7 Kanser Hücreleri Üzerinde Etkinliğinin İncelenmesi, 23. Ulusal Kimya Kongresi, 16-20 Haziran 2009, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, SİVAS, (POSTER ÖDÜLÜ).
- **Özlet AKÇA**, E. İlker MEDİNE, Çağlar ÖZDEMİR, Perihan ÜNAK, Serhan SAKARYA, Suna TİMUR, Yarıiletken Nanoparçacıkların Hücre Görüntülenmesinde Kullanılması, ADU BİLTEM İkinci Proje Şenliği, s6, 26-30 Nisan 2010, Adnan Menderes Üniversitesi Kongre Merkezi- Aydın (SÖZLÜ SUNUM).

- **Özlet AKÇA**, E. İlker MEDİNE, Perihan ÜNAK, Serhan SAKARYA, Suna TİMUR, Karbohidrat Bağlı CdSe/CdS Kuantum Dotların MCF-7 Meme Kanser Hücreleri Üzerinde Etkinliğinin İncelenmesi, 24. Ulusal Kimya Kongresi, Karaelmas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 29 Haziran-2 Temmuz 2010, ZONGULDAK (POSTER).
- **Özlet AKÇA**, Çağlar ÖZDEMİR, Perihan ÜNAK, Suna TİMUR, CdSe/CdS Kuantum Dot Spotların Hazırlanması ve Biyokonjugasyona Bağlı Bazı Özelliklerinin İncelenmesi, 24. Ulusal Kimya Kongresi, Karaelmas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 29 Haziran-2 Temmuz 2010, ZONGULDAK (POSTER).

Uluslararası;

- Çağlar OZDEMİR, **Ozlet AKCA**, E.İlker MEDINE, Perihan UNAK, Suna TIMUR, Glucose Biosensors Using Modified Core–Shell Magnetic Nanoparticles Supported on Carbon Paste Electrode, Conference on Nanomaterials and Nanosystems - (Nanomats2009), 10-13 Ağustos 2009, İstanbul/TURKIYE
- **Ozlet AKCA**, Perihan UNAK, E.İlker MEDINE, Serhan SAKARYA, Suna TIMUR, Fluorescence Labelled, Magnetic Nanoparticles conjugated D-penicillamine-Antibody and *In vitro* evaluation On Breast Cancer Cells, Conference on Nanomaterials and Nanosystems - (Nanomats2009), 10-13 Ağustos 2009, İstanbul/TURKIYE

Tezler

Y. Lisans;

- Radyoiyot İşaretli Noktasal Özellikli Cd(Se) Nanoparçacıkların Sentezi ve Biyo-Affinitelerinin İncelenmesi.