

# TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU



**TAKIM ADI:**VIRUSERS

**PROJE ADI:**Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman Saçılması ve Makine Öğrenmesi Teknikleri ile COVID-19'un Hızlı Tespiti

**BAŞVURU ID:**79088

**KATEGORİ:**PROJE KATEGORİSİ

## İçindekiler

### 1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıkan, Dünya Sağlık Örgütü tarafından pandemi olarak ilan edilen ve SARS-CoV-2 virüsünün sebep olduğu COVID-19 adı verilen pnömoni benzeri bir hastalığa yol açan yeni tip koronavirüs Türkiye dâhil olmak üzere tüm dünyaya yayılmış ve ortaya çıktığı günden itibaren dünya genelinde milyonlarca insanın ölümüne sebep olmuş ve olmaya devam etmektedir. COVID-19'un ortaya çıkmasıyla bulaşıcı hastalığı izlemek, kontrol altına almak ve engellemek için hızlı, hassas ve spesifik teşhis yapabilen yöntemlerin geliştirilmesinin ne kadar önemli olduğu birkez daha görülmüştür. Hastalık oldukça bulaşıcı olduğundan dolayı enfekte bireylerin hızlı tespiti ve izolasyonu çok önemlidir. Tanı klinik, laboratuvar ve radyolojik özellikler kullanılarak konulmaktadır. COVID-19'un semptomları ve radyolojik bulguları spesifik olmadığından, SARS-CoV-2 enfeksiyonu, virüsteki belirli bir genetik diziyi çoğaltarak nükleik asit bazlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve virüse karşı oluşan antikor yanıtını tespit eden serolojik testlerle doğrulanmaktadır. Fakat bu teknikler, eğitilmiş personel ve maliyetli sarf malzemeler (primerler, antikorlar, polimerazlar vb.) gerektirmesi, yanlış negatif sonuçlar vermesi ve zaman alıcı olması gibi birçok dezavantaja sahiptir. Bu dezavantajları ortadan kaldıracabilecek yöntemlerin geliştirilmesi salgını kontrol altına almak ve güvenilir sonuçlara ulaşmak için acil ihtiyaç olarak görülmektedir. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak için bu projede soy metal nanoparçacıklar kullanılarak incelenen numunenin moleküler yapısı hakkında bilgi veren ve farklı malzemeleri ışıkla karakterize etmek için çok yönlü, invaziv olmayan bir yöntem olan Yüzeyle Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy-SERS) ve makine öğrenmesi yöntemleri kullanılarak COVID-19 tespiti yapılacaktır.

Projeyi gerçekleştirmek için SARS-CoV-2 virüsünün yapısal proteinleri olan spike (S), membran (M) ve nükleokapsid (N) proteinlerini yapısında bulduran ve donanımlı laboratuvar şartları gerektirmeyen psPAX2 lentivirüslerinin SERS spektrumları toplanacaktır. Ardından sistemin seçiciliğini ve farklı virüsleri de tespit edebileceğini göstermek için rotavirüs ve sığır koronavirüsü (BCov örneklerinden SERS spektrumları elde edilecektir. SERS'teki sinyal artışını sağlamak için altın nanoparçacıklar (AuNPs) kullanılarak hazırlanan bir yüzey tercih edilecektir. Virüs örnekleri bu yüzey üzerine damlatılarak SERS spektrumları toplanacaktır. Virüslere ait SERS spektrumları toplandıktan sonra SARS-CoV-2 virüsünün yapısal proteinlerini taşıyan psPAX2 lentivirüslerden elde edilen spektrumların tespiti makine öğrenmesi tekniklerinden temel bileşen analizi ve geleneksel sınıflandırıcılar ile gerçekleştirilecektir. Böylelikle COVID-19'u tespit etmek için mevcut yöntemlerin dezavantajlarını ortadan kaldıracabilecek ve salgının kontrol altına alınmasına yardımcı olabilecek analitik bir yöntemin geliştirilmesi sağlanacaktır.

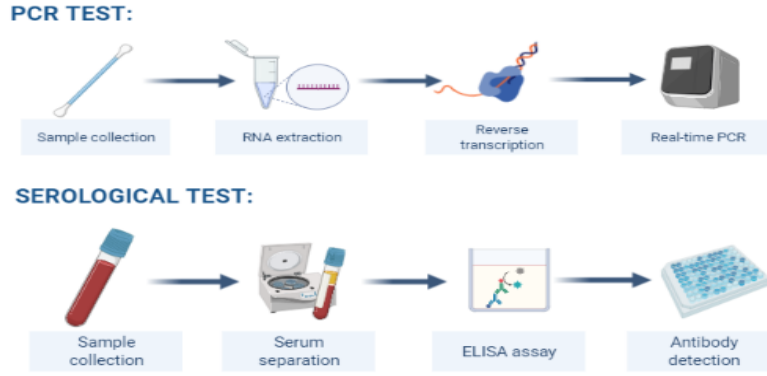
### 2. Problem/Sorun:

SARS-CoV-2, vücuda genellikle burun, gözler ve ağız aracılığıyla girmektedir [1]. COVID-19'un ana bulaşma yolu insanlar arası doğrudan temas ve damlacık iletimidir. Damlacık iletimi, enfekte bir kişi hapsirdiğinde veya öksürdüğünde, yakındaki insanlar solunum damlacıklarını yuttuğunda veya soluduğunda meydana gelmektedir [2]. Hastalık oldukça bulaşıcıdır. Enfekte olmuş bir hastanın, virüsü ortalama kaç kişiye bulaştırdığını gösteren  $R_0$  değeri, SARS-CoV-2 için yaklaşık 2,5 olarak hesap edilmektedir.

SARS ve MERS'in klinik belirtileri genellikle solunum yolu ile sınırlıyken, COVID-19 vakalarında geniş bir heterojen klinik belirtiler yelpazesi mevcuttur. Bunun sebebi birden fazla organ ve kan damarı boyunca ACE2 reseptörlerinin her yerde bulunmasıyla açıklanmaktadır. SARS-CoV-2 ile

enfekte olmuş bir hastanın gösterdiği ilk semptomlar ateş, kuru öksürük, halsizlik ve nefes almada güçluktur. Belirtiler sadece bunlarla sınırlı kalmayıp virüs, kalp, karaciğer, böbrekler, gastrointestinal sistem ve merkezi sinir sistemi (MSS) gibi hayati organları da etkileyerek çoklu organ komplikasyonlarına neden olabilmektedir [3]. SARS-CoV-2'nin sebep olduğu **semptomlar, asemptomatik SARS-CoV-2 taşıyıcılarının tanımlanması ve influenza gibi diğer akut solunum yolu viral enfeksiyonları ile örtüşen özelliklerden dolayı belirleyici değildir. Bu nedenle, COVID-19 vakalarının sağlıklı veya diğer virüs bulaşmış bireylerden ayırabilen oldukça hassas ve spesifik tanı yöntemlerinin, hastalık yönetiminin ve terapötiklerin geliştirilebilmesi çok önemlidir** [4].

Nükleik asit testleri, serolojik testler, kültüre dayalı virüs tespiti ve bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüleri COVID-19'u teşhis etmek ve görüntülemek için kullanılmaktadır. RT-PCR (Reverse transcription-polymerase chain reaction, Ters Transkripsiyon- Polimeraz Zincir Reaksiyonu), göğüs BT görüntülemesi, serolojik testler COVID-19'un saptanmasında en yaygın tanı teknikleridir. Kültüre dayalı virüs tespiti, virüs patogenezi araştırması için önemli bir araçtır, ancak kültür döngüsü çok uzundur, bu nedenle akut bulaşıcı hastalıklarla ilgili virüslerin hızlı tespiti için uygun değildir. Nükleik asit testleri, COVID-19'u teşhis etmenin birincil yöntemidir. RT-PCR, genomik RNA'dan cDNA sentezine dayanan ve bunu amplifikasyonla takip eden COVID-19'un saptanmasında altın standarttır [5]. **Bu testler şüpheli veya doğrulanmış COVID-19 hastalarında patojenleri hızlı ve hassas bir şekilde tanımlayabilir, ancak RNA virüslerinde büyük miktarlarda genetik varyasyon ve primerler, problemler ve hedef sekansların uyumsuzluğu, tespit performansının düşmesine ve yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Bunların yanında RT-PCR yönteminde PCR kitlerinin mevcudiyetinin talebi karşılamaması, kentsel şehirlerin dışındaki toplum hastanelerinin PCR altyapısından yoksun olması, toplanan örnekte saptanabilir SARS-CoV-2 varlığının düşük olması ve asemptomatik bir hastaya SARS-CoV-2 bulaşmış ve iyileşmiş ise, PCR'ın bu önceki enfeksiyonu tanımlayamaması ve kontrol önlemlerinin uygulanamaması, eğitilmiş eleman ihtiyacı, zaman alıcı bir yöntem olması dezavantajları olarak sayılabilmektedir** [6]. Göğüs BT, daha fazla test, izolasyon ve tedaviye ihtiyaç duyan ve RT-PCR'den daha duyarlı olan hastaları belirlemek için kullanılabilir. Ancak **tamamen COVID-19'a özgü değildir ve korona benzeri semptomlarla diğer hastalıkları da teşhis ettiği gösterilmiştir. Aynı zamanda BT sistemleri pahalıdır, teknik uzmanlık gerektirir ve COVID-19'u özel olarak teşhis edemez. Bu eksiklikleri gidermek için diğer teknolojilerin SARS-CoV-2'ye uyarlanması gerekir.** COVID-19'u asemptomatik veya semptomatik geçirenlerde genel olarak belirli bir süre sonra SARS-CoV-2 virüsüne karşı antikor cevabı (IgM, IgA ve IgG) gelişmektedir. Serolojik testler, solunum sistemi örneklerinde (balgam, nazofaringeal sürüntü, boğaz sürüntüsü, vb.) SARS-CoV-2 virüsüne karşı hasta tarafından üretilen oluşan antikor yanıtını inceleyen yöntemlerdir. Bu yöntemler arasında ELISA en çok tercih edilen serolojik testtir. **Serolojik testler hastalığın erken döneminde antikor yanıtı oluşmaması sebebiyle erken tanı amacıyla kullanılamaz** [7]. Bu sebeplerden dolayı COVID-19'u hızlı, hassas, güvenilir sonuçlar verebilebilen teşhis yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.



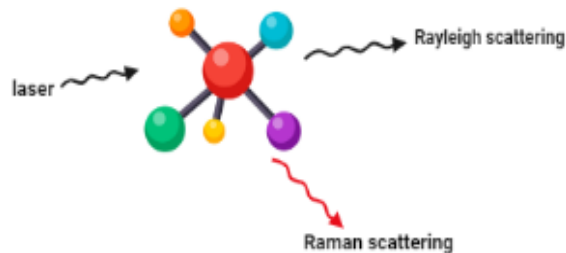
Şekil 1. COVID-19'u tespit etmek için kullanılan yöntemlerin şematik gösterimi

### 3. Çözüm

COVID-19'un hızlı tespiti için mevcut yöntemlerin dezavantajlarına çözüm olarak SERS ve makine öğrenmesi yöntemlerinin birlikte kullanılması önerilmektedir. SERS gibi titreşimsel spektroskopi yöntemleri moleküler teşhiste umut vaat etmektedir. Bu teknikler, enfeksiyon teşhisinde uygulanabilirliklerini kanıtlamış ve aynı zamanda kanser başta olmak üzere birçok hastalığın erken teşhisi, izlenmesi için de umut vericiler sonuçlar sergilemiştir. SERS, hücre, doku analizinin yanında bakteri, virüs gibi salgına sebebiyet verecek patojenlerin tespitinde de uygulanabilir ve güvenilir olduğunu göstermiştir. Bu teknik, viral zarf üzerindeki biyokimyasal yapıları saptamak için yalnızca SERS-aktif substrat ve bir Raman spektroskopisi kullandığından, biyokimyasal tabanlı bir teşhisin aksine, başka herhangi bir sarf malzeme, kalibrasyon veya özel tedavi gerektirmez, bu nedenle basit olarak kabul edilir ve özellikle pandemi için uygun SARS-CoV-2 virüsünün hızlı taranması için hızlı ve doğru bir tespit için uygulanabilir bir yöntemdir.

### 4. Yöntem

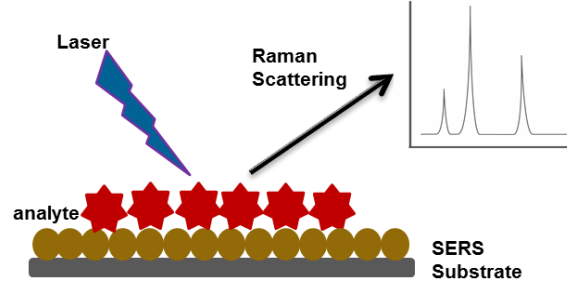
SERS, plazmonik nanoyapıların üzerinde veya yakınında olan moleküllerin Raman sinyallerini zenginleştirerek onların parmak izini kullanıp kimyasal veya biyolojik moleküllerin tanısı ve karakterizasyonu için kullanılan güçlü bir analitik tekniktir [8,9,10]. SERS yöntemine, farklı malzemeleri ışıkla karakterize etmek için kullanılan çok yönlü, invaziv olmayan Raman saçılması temel olmaktadır. Bu yöntemde monokromatik bir ışın kullanılarak incelenecek madde odaklanır ve maddeden saçılan ışının belirli bir açıdan ölçümü gerçekleştirilir. Bu işlem esnasında iki farklı saçılma gerçekleşir. Bunlardan biri elastik saçılma olan Rayleigh saçılmalarıdır ve saçılan ışınların büyük çoğunluğunu oluştururlar. Diğer saçılma türü olan Raman saçılmaları ise elastik olmayan saçılmalarıdır ve Rayleigh saçılmasına göre  $10^4$ - $10^5$  kez daha zayıftırlar. Bu zayıf saçılmalar moleküllerin titreşimsel modları hakkında bilgi verir. Özellikle molekülleri tanımamızı sağlayan kimyasal parmak izlerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılır ve Raman spektroskopisinin temelini oluştururlar [11].



Şekil 2. Raman saçılmasının şematik gösterimi

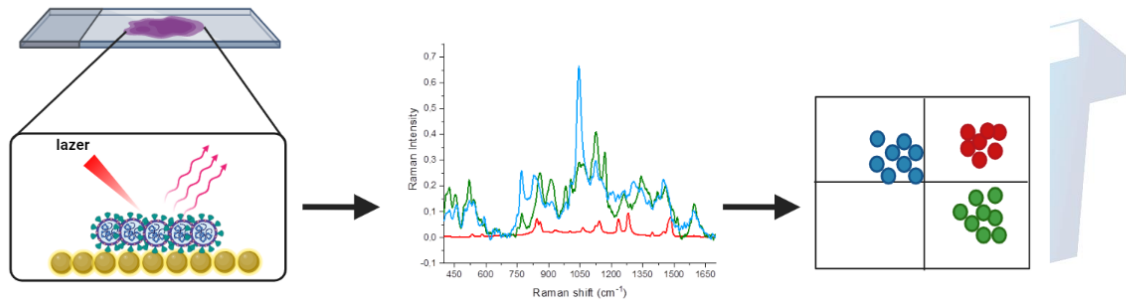
Raman spektroskopisinin bir uygulaması olan SERS yöntemi ile zayıf saçılma şiddeti güçlendirilerek daha düşük konsantrasyonlarda numune ölçümünün gerçekleştirilmesi, daha

yorumlanabilir spektrumların elde edilmesi mümkün olmaktadır. Bu yöntem, numune ön hazırlığı gerektirmemesi, yüksek duyarlılık ve hıza sahip olması ve tekrarlanabilir spektrumlar alınması, yüksek spesifiklik ve hassasiyete sahip olması, çoklu tespit yapabilme kabiliyetinin olması, maliyetinin az olması, daha az zaman alıcı olması gibi birçok avantaja sahiptir [12].



Şekil 3. SERS yönteminin şematik gösterimi

Bu proje ile ilk olarak kolay hazırlanabilir ve kendi kendine toplanma eğilimi gösteren bir SERS aktif yüzey hazırlanacaktır. Ardından oluşturulan yüzey kullanılarak virüs örneklerinin SERS spektrumları toplanacak ve toplanan SERS spektrumları ile makine öğrenmesi yöntemleri kullanılarak virüs örneklerinin sınıflandırması gerçekleştirilecektir. Proje kapsamında analizi yapılacak virüs örnekleri Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesinden ve Koç Üniversitesinden temin edilecektir.

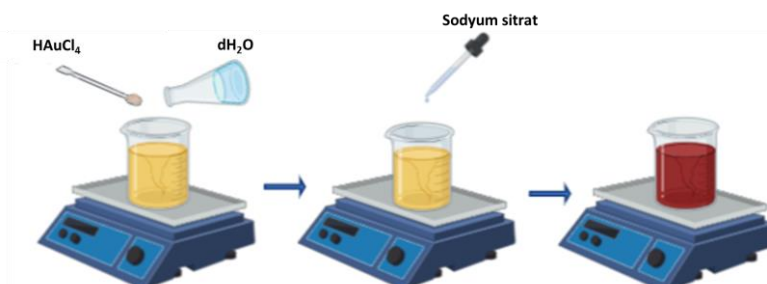


Şekil 4. Projede kullanılacak yöntemin genel gösterimi

Proje kapsamında yapılacak deneyler aşağıda verilmektedir.

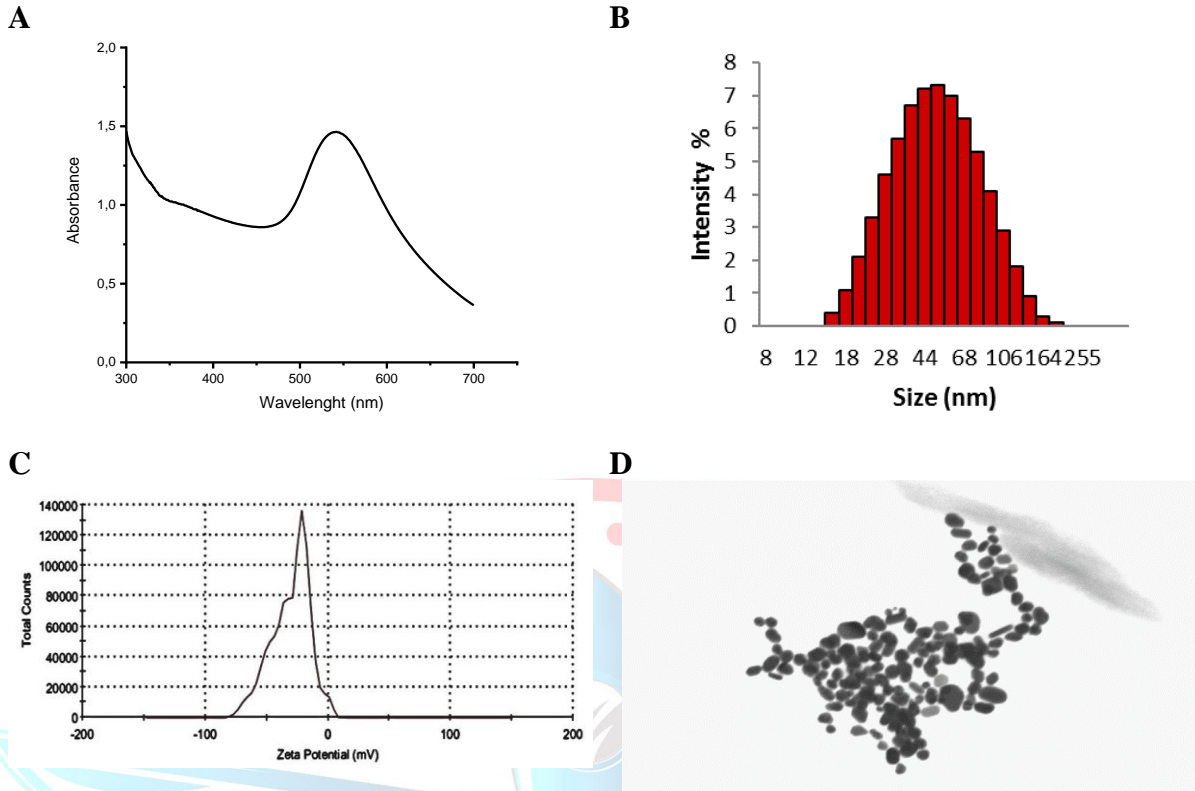
#### 4.1. AuNP Yüzey Hazırlama

AuNP yüzey hazırlamak için 50 nm boyutlarında altın nanoparçacıklar kullanılacaktır. AuNPlar Turkevich yöntemi kullanılarak sentezlenecektir [13]. Kısaca, 5 mg  $\text{HAuCl}_4$ , 50 mL ultra saf su içerisinde çözdürülecek ve kaynayınca kadar manyetik karıştırıcı üzerinde ısıtılacaktır. 300  $\mu\text{L}$  önceden hazırlanmış sodyum sitrat çözeltisi (%1) hızlı bir şekilde kaynayan çözeltiliye ilave edilecek ve çözelti 15 dk daha kaynatılacaktır.



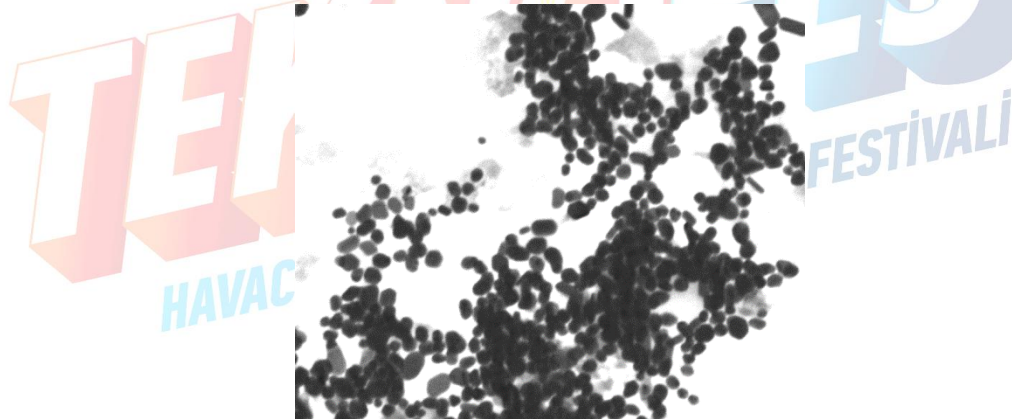
Şekil 5. AuNP sentezinin şematik gösterimi

AuNPLerin absorpsiyon spektrumu, UV-Vis spektrometre kullanılarak elde edilecektir. AuNPLerin hidrodinamik boyutu ve zeta potansiyeli Zetasizer cihazı kullanarak belirlenecektir.



**Şekil 6.** Sentezlenen AuNPLerin karakterizasyon sonuçları. **A)** UV-Vis Spektrometre, **B)** DLS Boyut dağılımı, **C)** Zeta Potansiyeli, **D)**TEM görüntüsü

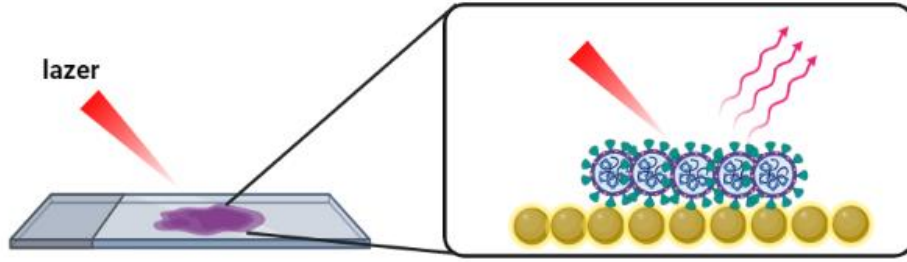
AuNPLerin karakterizasyonundan sonra AuNP yüzeyleri hazırlanacaktır[14] . Bunun için, 50  $\mu$ L AuNP çözeltisi, 1  $\mu$ L 10 mM  $\text{CuSO}_4$  çözeltisi ile tüp içerisinde karıştırılacaktır. Karışım  $\text{CaF}_2$  üzerine damlatılacak ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılacaktır.



**Şekil 7.** AuNP- $\text{CuSO}_4$  SERS aktif yüzeyin TEM görüntüsü

#### 4.2.SERS Ölçümü

Virüs örneklerinin SERS ölçümü için, 2  $\mu$ L virüs örneği hazırlanan AuNP yüzeyler üzerine damlatılacak ve oda sıcaklığında yaklaşık 10 dk kurumaya bırakılacaktır. Virüs örnekleri kuruduktan sonra SERS spektrumları toplanacaktır. Bütün SERS ölçümleri WıTech alpha M+ Raman Mikroskopi Sistemi kullanılarak yapılacaktır. Virüs örnekleri, yakın infrared 785 nm diod lazer kullanılarak 10-30 mW lazer gücü ve 50x objektif altında uyarılacaktır. Lazerin numune üzerinde kalma süresi 2sn olarak ayarlanacaktır.



Şekil 8. SERS ölçümünün şematik gösterimi

### 4.3. Veri Ön İşleme ve Çok Değişkenli Analiz

Virüs örneklerinden  $400-1700 \text{ cm}^{-1}$  aralığında spektrum toplanacaktır. Veri üzerindeki gürültü bileşenlerini ortadan kaldırmak için spektrumlar üzerinde taban hattı çıkarılması (5. Derece polinomiyal) ve Savitzky Golay filtre ile yumuşatma işlemleri (5. derece 11 noktalı) gerçekleştirilecektir. Bu adımlar WITec Project Plus 5 üzerinden gerçekleştirilecektir. Bu işlemlerin ardından tüm spektral vektörlerin ortalaması 0, standart sapması 1 yapılarak veri üzerinde standardizasyon işlemi yapılmıştır. Temel bileşen analizi (TBA), yüksek boyutlu uzayda yer alan spektral vektörlerin daha düşük boyutlu uzayda gösterilmesini sağlayan istatistiksel bir tekniktir. Bu çalışmada temel bileşen analizi, MATLAB (Mathworks, USA) yazılımı kullanılarak 'pca' fonksiyonu ile gerçekleştirilecektir. Ardından, veriden TBA ile çıkarılan öz nitelikler kullanılarak geleneksel sınıflandırıcılardan (destek vektör makinası, k-en yakın komşu algoritması, karar ağacı, Naive Bayes) en iyi sınıflandırma performansı sağlayan teknik seçilerek sınıflandırma işlemi gerçekleştirilecektir. En iyi sınıflandırma yöntemini belirlemek için sınıflandırıcı performansı k-kat çapraz doğrulama yöntemi ile belirlenecektir. Bu teknikte kısaca, veri kümesi rastgele k gruba (yaklaşık olarak eşit büyüklükte) bölünür, bunların  $k - 1$  alt kümesi eğitim için ve 1 alt küme test için kullanılır. Bu prosedür, her bir alt küme test kümesi olarak kullanılabilecek kadar tekrarlanır. Sınıflandırıcının performansı, k adet test sonuçlarının ortalaması hesaplanarak belirlenir. Bu çalışmada 5-kat çapraz doğrulama tekniği kullanılarak sınıflandırıcı performansları ölçülecektir. Bu yöntemden elde edilen sonuçlar ile her bir sınıflandırıcıya ait karmaşıklık matrisleri (confusion matrix) oluşturulacak ve doğruluk (accuracy), hassasiyet (sensitivity), özgüllük (specificity) değerleri belirlenerek verilen sınıfları en başarılı şekilde sınıflandırabilen algoritma seçilerek kullanılacaktır.

### 5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Salgınların engellenmesinde ve kontrol altına alınmasında bireylere yapılacak test sayısının artırılması gerekmektedir. Projemiz mevcut yapılmakta olan COVID-19 teşhis yöntemlerinin dezavantajlarını kaldırarak salgının kontrol altına alınmasını ve hızlı bir şekilde enfekte bireylerin tespit edilerek izolasyon durumlarının daha iyi kontrol edilmesini sağlayacaktır. Bu projede kullanılacak yöntem ile antikor, aptamer gibi herhangi bir etiketleme olmaksızın doğrudan virüsün kendisinden ölçüm gerçekleştirilecektir.

Diğer araştırmacılar tarafından SARS-CoV-2 ve diğer virüslere yönelik çalışmalar mevcuttur. COVID-19 tespitine yönelik çalışmalarda Raman saçılması ve SERS kullanılmıştır. Bilindiği üzere Raman saçılması ile elde edilen sinyaller düşük genlikli olmaktadır. Bu, hem artan lazer gücü nedeniyle uzun sinyal alma süresine ve numunenin zarar görmesine hem de düşük konsantrasyonlarda virüs tespiti yapılması durumlarında dezavantaj oluşturmaktadır. Yapılan bir başka çalışmada ise SERS aktif yüzey oluşturulmuş ve yüzeyin üzeri ACE2 reseptörü ile kaplanmıştır. Böylelikle virüsü tespit etmek için ACE2 reseptöründen yararlanılarak etiketli bir

ölçüm gerçekleştirilmiştir. Etiketli SERS ölçümlerinde her ne kadar spesifik bir ölçüm yapılmış olsa da kullanılan etiketler maliyet açısından dezavantaj oluşturmaktadır.

Bu proje ile literatürde uygulanan ölçümlerden farklı olarak kolay hazırlanabilecek ve herhangi bir etiketleme kullanılmayacak bir yüzey tercih edilecek ve bu yüzey kullanılarak virüs örneklerinin spektrumları toplanacaktır.

## 6. Uygulanabilirlik

Yapılması planlanan proje ile COVID-19'un hızlı, basit ve hassas teşhis edilmesini sağlayabilecek yöntem kullanılacaktır. Kullanılacak yöntem ile virüs tespit edilmesinde yanlış ve yetersiz numune alımları, antikor cevabının oluşmasının beklenilmesi, pahalı sarf malzemelerin temini ve kullanımı gibi durumların önüne geçilmiş olacaktır. Aynı zamanda numune ön hazırlığına gerek kalmadan virüsün kendisinden tespit edilmesi gerçekleştirilecektir. Oluşturulan SERS aktif yüzeyin litografi gibi alt yapı ve uzman gerektiren yöntemlerin aksine uzman ve alt yapı gerektirmeyen, basit ve kendiliğinden bir araya gelebilen yüzey yapılacaktır. Kullanılan altın nanoparçacıkların stabilite durumlarının uzun olduğu göz önüne alınarak oluşturulan yüzeyin uzun süre saklanmasına bağlı olarak geliştirilen yöntem ticari olarak uygulanabilme özelliği bulunmaktadır.

## 7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

Proje boyunca yapılacak deneyler Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma Merkezi (ERNAM)'nde yürütülecektir. Projenin gerçekleştirilebilmesi için Raman spektroskopisi, UV-Vis spektrometre, Zetasizer cihazı, Geçirimli elektron mikroskopu (TEM) ve sarf malzemeler gereklidir. Sarf malzemeler ve hizmet alımı için bütçe gereksinimi olacaktır.

**Tablo 1.** Proje Zaman Planlaması

İP No	İş Paketlerinin Adı	Kim(ler) Tarafından Gerçekleştirileceği	Zaman Aralığı
1.	AuNP Sentezi ve Karakterizasyonu	Takım Lideri ve diğer araştırmacılar	1 Ay
2.	SERS aktif yüzey hazırlama	Takım Lideri ve diğer araştırmacılar	1 Ay
3.	Virüs örneklerinin SERS spektrumlarının toplanması	Takım Lideri ve diğer araştırmacılar	2 Ay
4.	Elde edilen SERS spektrumlarının işlenmesi makine öğrenmesi yöntemlerinin uygulanması	Takım Lideri ve diğer araştırmacılar	2 Ay

**Tablo 2.** Ekipmanlar,sarf malzemeler ve kullanım amaçları



Kullanılacak cihazlar ve sarf malzemeler	Kullanım amacı	Fiyat
Raman Spektroskopisi	Virüs Örneklerinin SERS spektrumlarının toplanması	1650 TRY (10 saat X 165 TRY)
UV-Vis Spektrometre cihazı	AuNPLerin karakterizasyonu	70 TRY (35 X 2 adet)
Zeta Potansiyel Ölçümü (Zetasizer)	AuNPLerin karakterizasyonu	200 TRY (100 X 2 adet)
Parçacık Boyut Ölümü (Dinamik Işık Saçılımı)	AuNPLerin karakterizasyonu	160 TRY (80X 2 adet)
Geçirimli elektron mikroskopu (TEM)	AuNP karakterizasyonu ve SERS aktif yüzeylerin görüntülerinin eldesi	500 TRY (250 X 2 saat)
Gold (III) Chloride (HAuCl <sub>4</sub> )	AuNP Sentezi	6000 TRY
Sodium Citrate Trihydrate	AuNP Sentezi	830 TRY
Copper (II) Sulfate (CuSO <sub>4</sub> )	SERS Aktif yüzey hazırlanması	650 TRY
Diğer sarf malzemeler (pipet ucu, falcon tüp...)		1500 TRY

**Proje tahmini bütçesi:** Projede kullanılacak sarf malzemelerin tahmini 8980 TRY, hizmet alımı için ise 2580 TRY olmak üzere tahmini en az 11560 TRY bütçe gerekmektedir.

Projemizin maliyetini laboratuvarımızda bulunan sodium sitrat, CuSO<sub>4</sub> ve diğer sarf malzemeler bütçe dışında tutularak ve hizmet alımı ücreti bütçeye dahil edilerek 11560 TRY'den 8580 TRY'ye düşürülebilir.

## 8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):

Projenin hedef kitesini salgın durumunda enfekte olabilecek bütün insanlar oluşturmaktadır. Bunun yanında hasta bireylerin tespitini gerçekleştirecek sağlık personelleri ve sistemin daha da geliştirilebilmesi durumunda konu ile ilgili çalışmalar yapan araştırmacılar, öğrenciler de hedef kitesini oluşturmaktadır.

## 9. Riskler

Projeyi olumsuz yönde etkileyebilecek riskler ve B planı tablo 3'te özetlenmiştir.

En önemli riskler	Risk Yönetimi (B Planı)
Virüs örneklerinden toplanan SERS spektrumlarının tekrarlanabilir olmama durumu	Raman Spektroskopisi ile moleküler düzeyde bilgilere ulaşıldığı için temin edilen virüs örneklerinin çoğaltılması durumlarında uygulanan protokolün birebir uygulanıp uygulanmadığı kontrol edilerek tekrardan tekrarlanabilir spektrumlar elde edilmesi sağlanacak ya da virüs konsantrasyonu artırılarak tekrardan spektrumları toplanacaktır.
Virüslere ait SERS spektrumlarının geleneksel sınıflandırıcılar ile sınıflandırılması neticesinde sınıflandırma performansı düşük olabilir.	Sınıflandırıcıların doğruluk, hassasiyet ya da özgüllük gibi parametrelerinin yeterince yüksek olmaması durumunda TBA yerine farklı öz nitelik çıkarma teknikleri denenecektir.

## 10. Kaynaklar

- [1] J. Shang *et al.*, "Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 117, no. 21, 2020, doi: 10.1073/pnas.2003138117.
- [2] Z. Gao *et al.*, "A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19," *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, vol. 54, no. 1, pp. 12–16, 2021, doi: 10.1016/j.jmii.2020.05.001.
- [3] S. D. Pitlik, "Covid-19 compared to other pandemic diseases," *Rambam Maimonides Med. J.*, vol. 11, no. 3, pp. 1–17, 2020, doi: 10.5041/RMMJ.10418.
- [4] X. Yuan *et al.*, "Current and Perspective Diagnostic Techniques for COVID-19," *ACS Infect. Dis.*, vol. 6, no. 8, pp. 1998–2016, 2020, doi: 10.1021/acsinfecdis.0c00365.
- [5] A. Tahamtan and A. Ardebili, "Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results," *Expert Rev. Mol. Diagn.*, vol. 20, no. 5, pp. 453–454, 2020, doi: 10.1080/14737159.2020.1757437.
- [6] V. V. R. Mehdi Bouhaddou, Danish Memon, Bjoern Meyer, Kris M. White *et al.*, "The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection," *Ann Oncol*, no. January, 2020.
- [7] A. Ghaffari, R. Meurant, and A. Ardakani, "COVID-19 serological tests: how well do they actually perform?," *Diagnostics*, vol. 10, no. 7, pp. 1–14, 2020, doi: 10.3390/diagnostics10070453.
- [8] M. Fleischmann, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan, "Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 26, no. 2, pp. 163–166, 1974, doi: 10.1016/0009-2614(74)85388-1.
- [9] D. L. Jeanmaire and R. P. VAN Duyne, "Surface Raman Spectroelectrochemistry Part I. Heterocyclic," *J. Electroanal Chem.*, vol. 84, p. 1, 1977.
- [10] C. Zong *et al.*, "Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Bioanalysis: Reliability and

- Challenges,” *Chem. Rev.*, vol. 118, no. 10, pp. 4946–4980, 2018, doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00668.
- [11] D. Lazaro-pacheco, A. M. Shaaban, and S. Rehman, “Raman spectroscopy of breast cancer,” *Appl. Spectrosc. Rev.*, vol. 55, no. 6, pp. 439–475, 2020, doi: 10.1080/05704928.2019.1601105.
- [12] P. L. Stiles, J. A. Dieringer, N. C. Shah, and R. P. Van Duyne, “Surface-enhanced Raman spectroscopy,” *Annu. Rev. Anal. Chem.*, vol. 1, no. 1, pp. 601–626, 2008, doi: 10.1146/annurev.anchem.1.031207.112814.
- [13] J. Turkevich, P. C. Stevenson, and J. Hillier, “A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold,” *Discuss. Faraday Soc.*, vol. 11, no. c, pp. 55–75, 1951, doi: 10.1039/DF9511100055.
- [14] J. Y. Lim *et al.*, “Identification of Newly Emerging Influenza Viruses by Detecting the Virally Infected Cells Based on Surface Enhanced Raman Spectroscopy and Principal Component Analysis,” *Anal. Chem.*, vol. 91, no. 9, pp. 5677–5684, 2019, doi: 10.1021/acs.analchem.8b05533.

