

# TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

## PROJE DETAY RAPORU

TAKIM ADI

Fizyon

PROJE ADI

Temassız İn Vitro Elektriksel Stimülasyon ve Kayıt Düzenegi

BAŞVURU ID

#76276

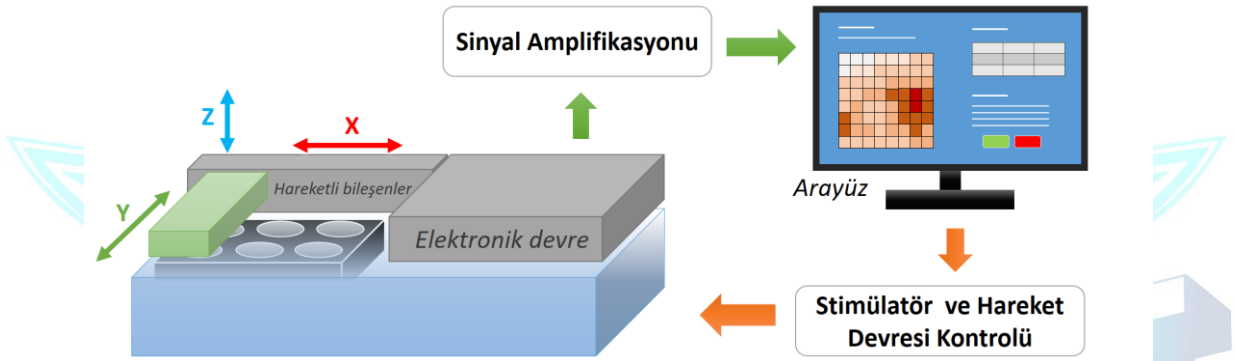
KATEGORİ

Fikir Kategorisi Üniversite ve Üzeri Seviyesi

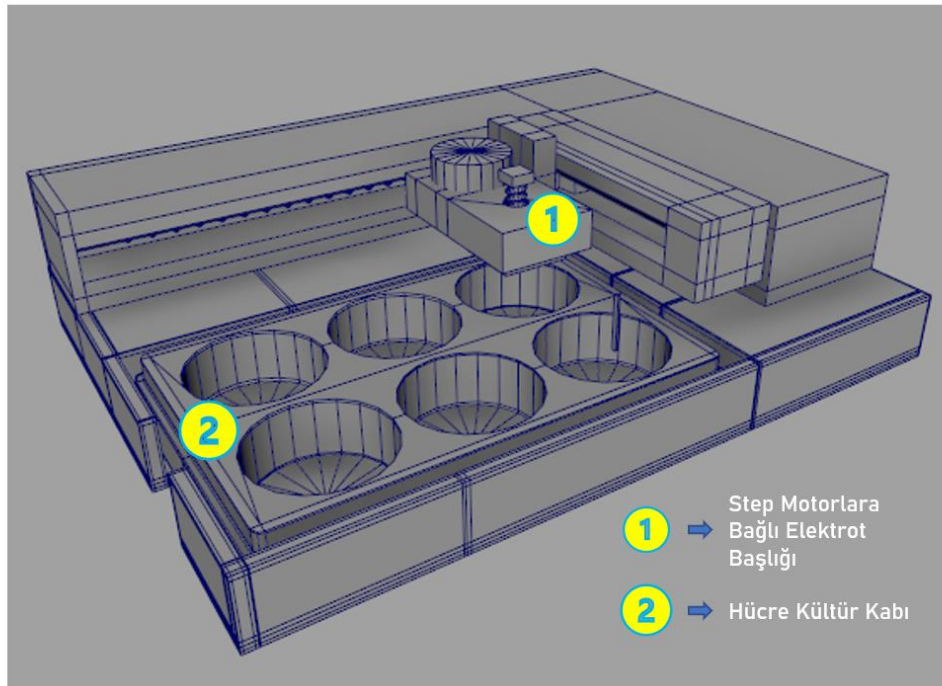
## İçindekiler

### 1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Bu proje kısaca; hücreler üzerinde elektriksel stimülasyon gerçekleştirebilen, aynı zamanda oluşan elektriksel alanı kaydedebilen ve işleyebilen bir laboratuvar deney düzeneğinin geliştirilmesi şeklinde ifade edilebilir. Bu düzeneğin temelini elektriksel alan potansiyellerini ölçebilen ve yazılım aracılığıyla bilgisayar üzerinden kontrol edilerek stimülasyon parametrelerini kültür kabındaki kuyucuklara iletebilen bir sistem oluşturmaktadır (Şekil 1). Deney düzeneğinin stimülasyon ve ölçümleri gerçekleştirecek olan elektrot dizisinin aynı kültür kabı üzerindeki farklı kuyucuklara otomatik bir şekilde geçiş yapması ve stimülasyon ve kaydı hücrelere temassız bir şekilde gerçekleştirmesi planlanmaktadır (Şekil 2).



Şekil 1. Deney düzeneğinin temel çalışma sisteminin temsili olarak gösterimi.



Şekil 2. Değiştirilebilir elektrot başlığını ve otomatik hareketi sağlayacak olan step motorların yerleşimini gösteren ön çalışma çizimleri.

Sistem yazılımının diğer bileşenleri kontrol edebilmesi, verileri toplayabilmesi, sinyal işleme ve istatistiksel analizler yapabilmesi, veritabanına kaydedebilmesi, excel formatında dışarı aktarabilmesi, bir grafik arayüzü aracılığı ile sistem başındaki kullanıcıyla, ağ arayüzü aracılığı ile de uzak kullanıcıyla etkileşimde olması hedeflenmektedir. Bunun yanı sıra sistemin temel yazılımının etkileşimde bulunacağı elektrotlar aracılığıyla hücrelerin elektrofizyolojik aktivasyon paternlerini belirleyebilmesi ve bunların haritalandırılabilmesi hedefi vektör komutlar oluşturarak daha sonra uygulanması planlanan stimülasyon parametrelerinin optimizasyonunu sağlayacaktır. Yapay zeka öğrenmesi ile çalışması planlanan bu sistemin denemeler arttıkça elektrofizyolojik sonuçlarla histolojik görüntüleri eşleştirebilmesi, hücrelere uygulanacak ideal stimülasyon paternini öğrenmesi ve bu paternleri otonom bir şekilde gerçekleştirerek çalışmada araştırmacıya bağlı olarak ortaya çıkabilecek hata payını minimuma indirmesi de bu çalışmanın hedefleri arasındadır.

Yapılması hedeflenen projeyle ilgili 3 ana iş paketi ve bu iş paketlerinin altında çeşitli alt kırımlar belirlenmiştir. Bu iş paketlerinden birincisi elektromekanik alt sisteminin geliştirilmesidir. Elektromekanik alt sistemin geliştirilmesinin ilk kırılımı ise kullanılacak donanımların belirlenmesi ve tedarik edilmesidir. Bu kapsamda mikrodenetleyici (gömülü) kartı, elektronik entegreler ve uygun motor ve motor sürücü devrelerinin seçimi gerçekleştirilecektir. Alt kırımlardan elektrotların spesifikasyonuna gelindiğinde belirlenmesi gereken temel değişkenler elektrotların türü, dizilimi ve sayısıdır. Stimülasyon ve ölçüm devrelerinin tasarımı ve gerçekleşmesi alt kırımında, elektronik devreler tasarlandıktan sonra benzetim (simulation) ve laboratuvar ortamında testler gerçekleştirilecektir. Birinci iş paketinin son kısmında ise elektrotların X-Y ekseninde kuyucuklar arası ve aynı zamanda Z ekseninde hareket etmesini sağlayacak step motorların devresel kurulumu ve testleri yapılacaktır.

Ana iş paketlerinden ikincisi, yazılım alt sisteminin geliştirilmesidir. Bu kapsamda öncelikle elektronik bileşenlerin kontrol edilebilmesi ve sinyal işleme gibi bilgisayar üzerinden gerçekleştirilecek işlemler için kullanıcı kolaylığı açısından bir arayüz oluşturulacaktır. Ardından gömülü sistemin bilgisayar ile haberleşmesi (oluşturulacak sinyalin genlik ve frekans bilgileri ve ölçülen sinyalin bilgisayara aktarılması), gömülü sistemde stimülasyon sinyalinin oluşturulması ve DAC ile devrelere aktarılması ve elektrotlardan gelen sinyallerin ADC aracılığı ile kartta okutulması için gerekli olan kodların yazılacağı gömülü yazılımın geliştirilmesine geçilecek ve son olarak da donanım-yazılım optimizasyonu sağlanarak bu iş paketi sonlandırılacaktır.

Ana iş paketlerinden sonuncusu ise sistem entegrasyonunun yapılmasıdır. Bu iş paketinin birinci alt kırılımı ön prototipin oluşturulmasıdır. Bu kırımında tüm alt bileşenlerin entegre edileceği bütünleşik cihazın 3B parametrik modellemesi yapılacak ve 3B yazıcıda üretimi gerçekleştirilecektir. İkinci kırım olan sistemin test edilmesi kısmında ise oluşturulan ön prototipin nöron hücre kültürü üzerinde tüm fonksiyon testleri gerçekleştirilerek analizleri yapılacaktır. Kalite testleri kırımında sistemin gerçek deney koşullarında hücre kültürü inkübatörü içerisinde, 37 °C sıcaklık ve %80-90 nem oranı koşullarında sürekli çalışabilecek şekilde denemeleri gerçekleştirilecektir. Yüksek detaylı bir prototipin üretildiği son alt kırımında ise uzun süreli çalışmalara bağlı olarak ilgili parçalarda ortaya çıkabilecek

deformasyon ve benzeri sorunlar gözlemlenecek ve bir problem görüldüğü takdirde ön prototipte kullanılan malzemelerde değişimlere gidilecektir.

## 2. Problem/Sorun:

İn vitro hücre modelleri biyolojik bilimler, tıp ve eczacılık alanında yürütülen araştırmalar içerisinde sıklıkla kullanılan deneysel bir çalışma yöntemidir. Bu yöntemin maliyet ve etik açıdan birçok avantajı olmasına rağmen bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. Bu sınırlılıkların başında özellikle hücre uyandırılabilirliği kaynaklı hastalıkların in vitro modellenmesinin zorluğu gelmektedir. Bazı araştırmacılar bu problemi kendi imkanlarıyla geliştirdikleri basit düzenekler aracılığıyla aşmayı denemektedir fakat bu hem çalışmanın bilimsel açıdan güvenilirliğinin azalması hem de araştırmacı özelinde büyük uğraş gerektirmesi sebebiyle pek tercih edilmemektedir. Ayrıca bu çalışmaların standardizasyon konusunda da büyük problemler yaşayacağı muhtemeldir.

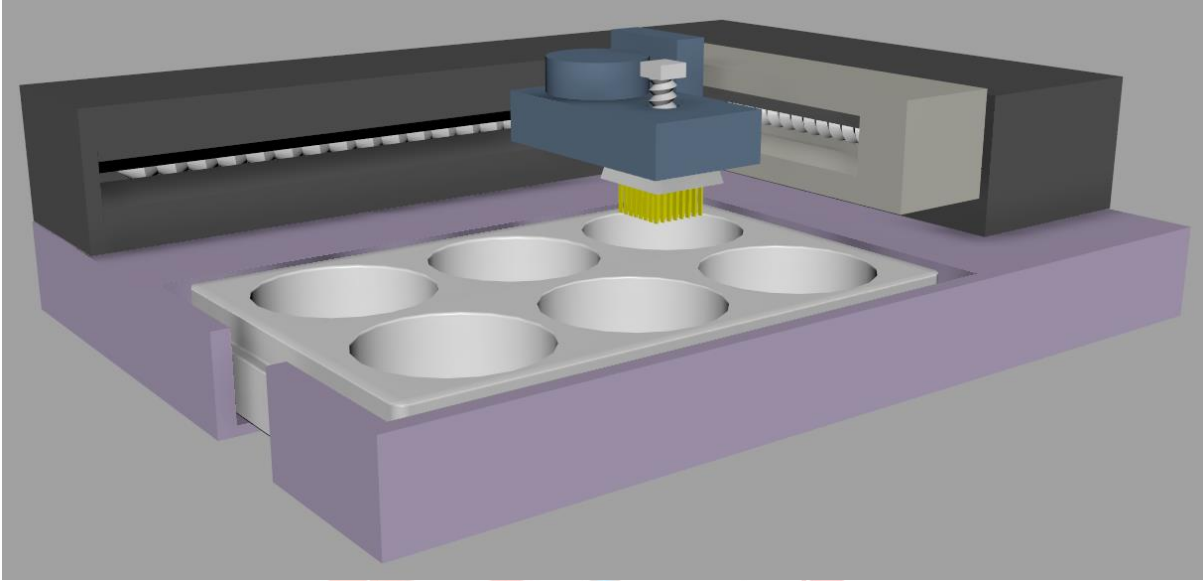
Oluşan bu tarz problemler ile alakalı olarak yurtdışı kaynaklı firmaların ürettiği düzenekler (örn. MEA sistemleri) aracılığıyla etkili çözümler oluşturulmuş fakat ülkemiz özelinde kur farkının da etkisiyle ortaya çıkan yüksek maliyet, araştırmacıların bu düzenekleri kullanmasını neredeyse imkânsız hale getirmiştir. Bu yüzden piyasada kabiliyetleri yüksek ancak ekonomik bir ürün ihtiyacı ortaya çıktığı görülmektedir.

Bunun yanında MEA sistemleri gibi düzeneklerin sarf malzeme olarak kullanılan standart kültür kaplarını kullanmaya izin vermemesi de çalışmaların maliyetini ekstradan arttıran bir diğer faktördür (*Maestro Edge MEA and Live-Cell Analysis System / Axion Biosystems, n.d.; Multiwell-MEA-System / Www.Multichannelsystems.Com, n.d.*). Ayrıca bu düzeneklerin elektriksel stimülasyonu elektrotların hücrelere teması yoluyla gerçekleştirmesi, hücreler üzerinde invazif etki göstererek çalışmaların standardizasyon ve güvenilirliğini de azaltmaktadır. Tüm bu faktörler göz önünde bulundurulduğunda özellikle maliyet probleminin, ülkemizdeki in vitro elektrofizyolojik çalışma sayılarının azlığını açıklayan temel faktör olduğunu düşünmekteyiz.

## 3. Çözüm

İlk olarak, planladığımız deney düzeneğindeki elektrotların hücrelerin stimülasyonunu besi vasatının iletken özelliğinden de faydalanarak temassız non-invazif bir şekilde gerçekleştirebiliyor olması, hücrelerin stimülasyonunu elektrotların hücreye teması yoluyla gerçekleştiren yurtdışı kaynaklı düzeneklerdeki invazif potansiyel problemini tamamen ortadan kaldırmaktadır. Besi vasatına elektrotların daldırılmasıyla gerçekleştirilen bu yöntem aynı zamanda kültür kabına gömülü elektrotların bulunduğu özel kültür kaplarına gereksinimi ortadan kaldırarak araştırmacıların standart kültür kaplarına kullanımına imkân verecek ve ortaya çıkacak ekstra maliyetin azaltılmasını sağlayacaktır.



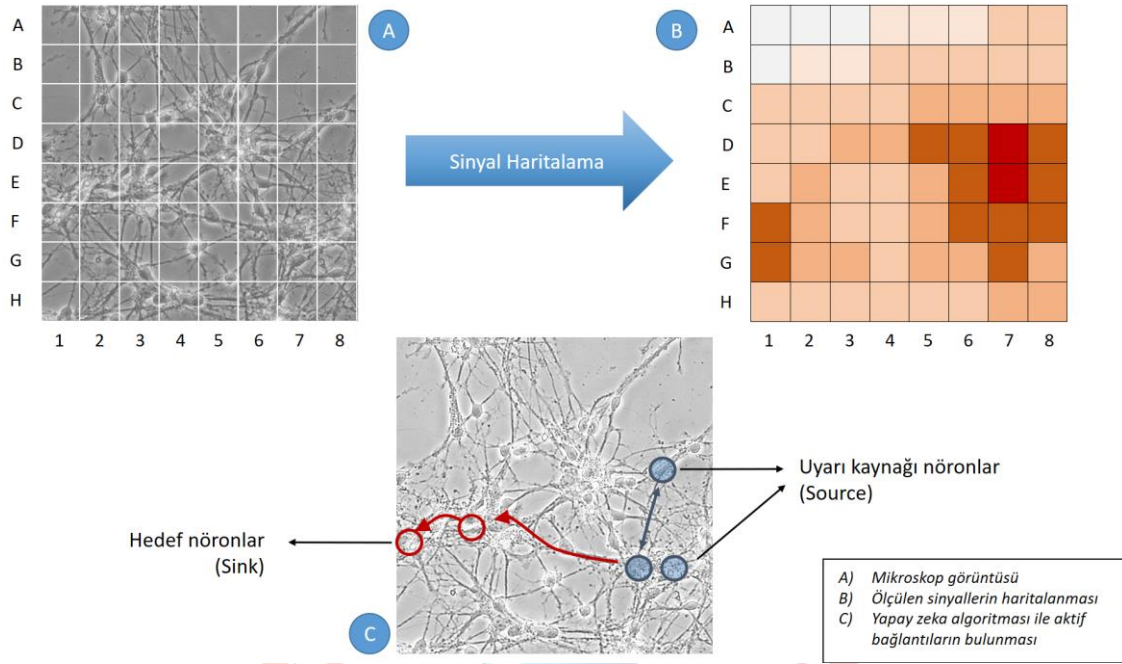


**Şekil 3.** Deney düzeneği prototipinin 3B tasarımı.

Maliyetle ilgili problemlerin üstesinden gelinmeye çalışıldığı bir diğer durum da elektrotların türü üzerinden çözüme kavuşturulmaya çalışılmıştır. İn vitro elektrofizyolojik çalışmalarda kullanılan bu tarz sistemlere bakıldığında elektrot türü olarak genellikle altın ve platin elektrotlar tercih edilmektedir (Lee et al., 2017; Lu et al., 2016; Marotta et al., 2004; Mobini et al., 2016). Bu elektrot türlerinin kendine özgü birçok avantajı olmasına rağmen maliyeti oldukça fazladır (Chen et al., 2019; Thirvikraman et al., 2018). Bu sebeple elektrot türünü gümüş üzeri altın kaplama seçmemiz bu maliyeti en aza indirme adına yapılan girişimlerden biridir. Bu elektrot türünü tercih etme sebebimiz ise gümüşün en iyi iletken metal olması olsa da gümüş iyonlarının hücreler üzerinde toksik etki göstermesi gibi önemli bir dezavantajı da bulunmaktadır. Bu sorun ise kimyasal yöntemlerle elektrot yüzeylerinin altın kaplanması yoluyla çözüme kavuşturulmuştur. Sonuç olarak elde ettiğimiz ve kullanmayı planladığımız elektrot türü hem iyi bir iletken hem de toksik etkisi olmayan ve maliyeti düşük elektrotlar olacaktır.

Bunun yanında değiştirilebilir elektrot başlığının bağlı olduğu otomatik hareket mekanizması elektrotların kuyucuklar arasında (X-Y eksenleri) ve kuyucuk üzerinde (Z eksen) hareketi sağlayarak hem her kuyucuk için gerekli olan elektrotların gereksinimini ortadan kaldıracak hem de hareketin otomatik olması sebebiyle deneyin standardizasyon ve tekrarlanabilirliği artıracaktır.

Son olarak da düzeneğe entegre yapay zekâ tabanlı analiz sistemi de, yapay zeka öğrenmesinin sağlayacağı avantajla hücre uyarlabilirliği kaynaklı hastalıkların in vitro modellenmesinin daha doğru bir şekilde gerçekleştirilmesine olanak sağlayacaktır.



**Şekil 4.** Sistemin yapay zekâ kapsamındaki histolojik görüntülerin eşlenmesi fonksiyonu ve hücrelerin network davranışlarının ilişkilendirilmesi.

#### 4. Yöntem

##### 1. Elektromekanik Alt Sisteminin Geliştirilmesi

- Sayısal ve dizilimsel olarak farklı tasarımlarda elektrotlar kültür kabı üzerinde denenecek ve bu tasarımlar; hücrelere olan etkisi, elektriksel alan homojenitesi ve ölçüm hassasiyeti açısından değerlendirilerek nihai elektrot sayısı ve dizilimine karar verilecektir. Ayrıca elektrotların kuyucuk tabanına en küçük yaklaşma değeri belirlenecektir.
- Sinyal jeneratöründen, gömülü karttan elde edilmesi düşünülen genliklerde ve frekanslarda sinyaller oluşturulacak ve genlikler istenen değerlere düşürülecektir. Ölçüm devrelerinin testi de benzer şekilde sinyal jeneratöründen alınan küçük genlikli sinyaller ile gerçekleştirilecektir. Devrelerin performansı referans ölçüm cihazlarıyla karşılaştırılarak belirlenecektir.
- Besi vasatında sadece stimülasyon, sadece kayıt ve hem stimülasyon hem de kayıt gerçekleştirilerek elektrotların performansı referans cihaz (Biopac MP-30) ile karşılaştırılarak belirlenecektir.
- Hareket düzeneğine sinyal jeneratöründen uygulanacak sinyaller ile elektrotların ilgili kuyucuğa uzamsal olarak doğru konumlanmasını sağlayacak değerler tespit edilecektir.

##### 2. Yazılım Alt Sisteminin Geliştirilmesi

- Düzenekte, birçok işletim sisteminde çalışabilecek açık kaynaklı yazılım

kullanılacaktır.

- Yazılımın sinyal işleme ile ilgili fonksiyonları üzerinde denemeler gerçekleştirilecektir. Sinyal işleme kapsamında elektrofizyolojik aktivasyon paternleri ve bu paternlerin histolojik görüntüyle eşleştirilme doğruluğu test edilecektir.
- Sinyal jeneratöründen geliştirme kartına değişik frekanslarda ve genliklerde sinyal uygulanacak ve bilgisayara alınan sinyal ile sinyal jeneratöründen verilen sinyaller hata oranı cinsinden karşılaştırılacaktır. Ayrıca kartta oluşturulan sinyallerin doğruluğu osiloskop aracılığıyla ölçülecektir.
- Karttan verilen sinyaller ile hareket mekanizması kontrol edilecek ve elektrotların ilgili kuyucuğa ne düzeyde doğru konumlandığı uzamsal olarak incelenecektir.
- Donanım ve yazılım bir bütün olarak ele alınacak ve test edilecektir. Sistemin ön validasyon işlemleri için tüm olası durumlar denenecek ve hız ve/veya doğruluk sorunları optimize edilecektir.

### 3. Sistem Entegrasyonunun Yapılması

- Tüm alt bileşenlerin entegre edileceği bütünlük cihazın 3B parametrik modellemesi hazırlanacaktır. Cihazın parçaları reçine bazlı sert malzemeden katmanlı üretim tekniğiyle üretilecektir.
- Sistemin test edilmesi kapsamında nöron hücre kültürüne farklı genlik ve frekanslarda stimülasyonlar uygulanacaktır. Aynı zamanda hücrelerden elde edilen sinyal değerleri literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırılacaktır. Ayrıca, histolojik görüntülerin yazılım tarafından bu paternlerle eşleştirilmesi değerlendirilecektir.
- Sistemin prototipleri, 37 °C sıcaklık ve %80-90 nem oranı koşullarında tekrarlanabilirlik açısından test edilecek ve malzemelerin deformasyona karşı direncine bakılacaktır.

### 5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Geliştireceğimiz deney düzeneğinin piyasadaki benzer cihazlardan farklılaşma nedenlerinin başında hücrenin elektriksel stimülasyon ve kaydını hücrelere temas etmeden non-invazif bir şekilde gerçekleştirebiliyor olması gelmektedir. Non-invazif temassız stimülasyon, elektrotların hücreye teması yoluyla stimülasyon gerçekleştiren cihazların hücreler üzerinde oluşturacağı negatif etkilerin minimuma indirgenmesini sağlamaktadır. Bu metod araştırmacıların kendi imkanlarıyla geliştirdiği basit düzenekler ile geliştireceğimiz düzeneği MEA sistemlerinden ayıran en önemli farklılıklardır.

Projenin yenilikçi sayılabilecek yönlerinden biri de elektrot türünün farklılığıdır. Bu konuyla ilişkili olarak geliştirilen basit düzenekler ve MEA sistemlerin de elektrot türü olarak sıklıkla altın ve platin elektrotlar tercih edilse de gümüş veya bipolar konsantrik elektrotların kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (Lee et al., 2017; Lu et al., 2016; *Maestro Edge MEA and Live-Cell Analysis System / Axion Biosystems*, n.d.; *Multiwell-MEA-System / Www.Multichannelsystems.Com*, n.d.; Marotta et al., 2004; Mobini et al., 2016; Vallejo et al., 2019). Bu elektrot türlerinin kendine özgü birçok avantaj ve dezavantajı olmasına rağmen temel sorun olarak gördüğümüz maliyet problemini oldukça arttırdığı belirlenmiştir (Chen et al.,

2019; Thirivikraman et al., 2018). Bunu aşmak adına altın kaplama gümüş elektrot tercihimiz yukarıda da anlatıldığı üzere bazı dezavantajları olmasına rağmen hem iyi bir iletken olarak hem de maliyeti açısından avantajlar sağlamasıyla çalışmanın katma değerini artıran ve yenilikçi yönünü ortaya koyan faktörlerden biri olarak düşünülebilir.

Ayrıca, düzeneğe entegre yapay zekâ teknolojisi ile hücrelerin elektrofizyolojik paternleriyle mikroskoptan elde edilen histolojik görüntülerin eşleştirebilmesi ve yapay öğrenme ile ilişkili olarak bu paternlerin otonom bir şekilde gerçekleştirilebilmesi de bu projenin yenilikçi yönünü arttıran en önemli özelliklerden biridir.

Cihazımızın yaygın olarak bulunan mevcut ürünlerden farklı olan son özelliği ise elektrotları taşıyan otomatik bir hareket mekanizmasının varlığıdır. Bu mekanizma ile elektrotların kuyucuklar arasında (X-Y eksenleri) ve kuyucuk üzerinde (Z eksen) hareketi sağlanacaktır. Bu özellik diğer sistemler için sarf malzeme olarak kullanılan ve her kültür kabı kuyucuğu için kuyucuğa gömülü olan elektrotların gerekliliğini ortadan kaldırmaktadır.

Geliştireceğimiz düzenekler ile benzer çalışmaların karşılaştırılması Tablo 1’de özetlenmiştir.

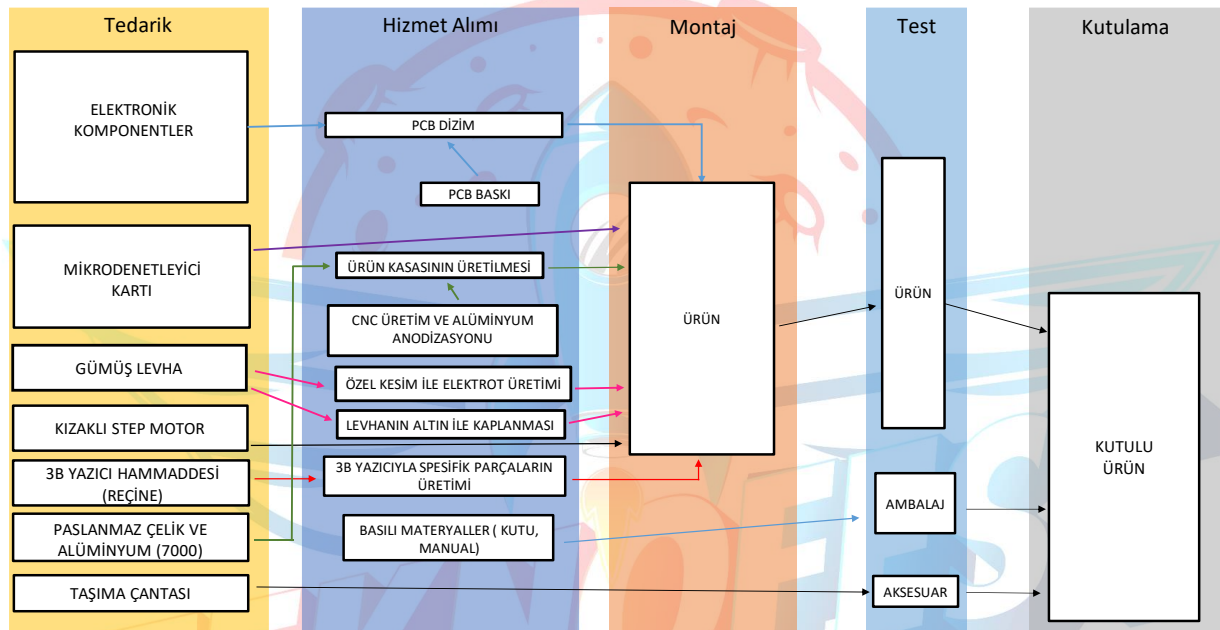
	Maestro 384-Edge	Multiwell MEA System	Basit Düzenekler	İn Vitro Temassız Elektriksel Stimülasyon ve Kayıt Düzeneği
Elektrot sayısı	max.64	12 - 3	1-2	max. 64
Elektrot türü	Altın	Altın	Platin/Altın/Gümüş	Altın kaplama gümüş
Standart Kültür Kabı Uyumluluğu	x	x	✓	✓
Kültür Kabı Entegrasyonu	6-24 kuyucuklu	24 - 96 kuyucuklu	6-96 kuyucuklu	6 Kuyucuklu (prototip)
Elektrotların Hücre Teması	✓	✓	x	x
Non-invazif Stimülasyon	x	x	✓	✓
Elektrofizyolojik Aktivite Haritalandırma	✓	✓	x	✓
Otomatik Hareket Mekanizması	x	x	x	✓
Histolojik Görüntü Eşleştirme	x	x	x	✓
Veri Analizi	✓	✓	x	✓
İnkübatör özelliği	✓	x	x	x

**Tablo 1.** İn vitro temassız elektriksel stimülasyon ve kayıt düzeneği ile benzer sistemlerin karşılaştırılması (Lee et al., 2017; Lu et al., 2016; *Maestro Edge MEA and Live-Cell Analysis System* / *Axion Biosystems*, n.d.; *Multiwell-MEA-System* / *Www.Multichannelsystems.Com*, n.d.; Marotta et al., 2004; Mobini et al., 2016; Vallejo et al., 2019).



## 6. Uygulanabilirlik

Projemizin hayata geçirilmesi için öncelikle bir kaynağın oluşturulması şarttır. Bu kapsamda Teknofest yarışmasından elde edilecek malzeme maliyeti desteğiyle birlikte projemizin THS 7 seviyesine ulaşabileceği kanaatindeyiz. Bu senaryo gerçekleşmediği takdirde ise B planı olarak TÜBİTAK'ın 1001-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme programına başvurulacaktır. Bunun yanında ise ayrıca T.C. Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı'nın KOSGEB destekleri (Girişimcilik & AR-GE Teknolojik Üretim ve Yerleştirme Destekleri) aracılığıyla veya yine TÜBİTAK'ın 1512 Teknogirişim Sermayesi Desteği Programı altında şirketleşmeye gidilerek projemizin hayata geçirilebileceğini düşünmekteyiz.



**Şekil 5.** Geliştirilecek düzeneği ticari olarak satılabilir bir ürün haline getirme planının şematizasyonu.

Projenin uygulanabilirlik açısından durumuna bakıldığında ise çok önemli bir avantaja sahip olduğu görülmektedir. O da, malzemelerin tamamına yakınının ülke içerisinde tedarik ediliyor olmasıdır. Bunun lojistik ve zaman açısından birçok avantaj sağladığı açıktır. Bu avantajlarının da haricinde tedarikçilerin ülke içinde ve TL cinsinden yapıyor olması, kura bağlı olan dalgalanmaları ortadan kaldıracak ve üretilen ürünün maliyetini de sabit bir hale getirecektir. Bu sayede projenin geleceği ve ticari sürdürülebilirliği de korunmuş olacaktır.

Projemizin ticari ürüne dönüşümü için ise öncelikle Şekil 5’de gösterilen ve aşılması gereken 5 ana iş paketi (tedarik, hizmet alımı, montaj, test ve kutulama) bulunmaktadır. Bu aşamalar tamamlandıktan sonra ise gerekli belgelerin (CE belgesi vs.) alınması ile ürünün ticarileşmesi için gerekli adımların hızlı bir şekilde atılması planlanmaktadır.

Gelir modeli olarak doğrudan satış belirlenmiş olup bu kapsamda; lisans altında üretim izni

alımı ve satışı, potansiyel kullanıcıların isteği doğrultusunda ve çalışmalarına uygun bir biçimde kişiselleştirilmiş deney düzeneklerinin üretilerek daha yüksek kâr marjıyla satışı ve değiştirilebilir elektrot başlığının sarf malzeme olarak satışı gerçekleştirilecektir (Şekil 6). Ana ürünlerden elde edilecek gelirin dışında bazı ara çıktılar da ayrı bir gelir kaynağı olarak kullanılması planlanmaktadır. Ara çıktılar olarak; stimülasyon ve ölçüm devreleri, otomatik hareket mekanizması, değiştirilebilir elektrot başlığı ve arayüz belirlenmiştir. Otomatik hareket mekanizması, otomatik besiyeri değişimi ve ilaç enjeksiyonu gerektiren biyolojik bilimler, tıp ve eczacılık alanındaki hücre kültürü çalışmalarında kullanıma sunulabilecek ticari bir potansiyel taşımaktadır. Bunun yanında diğer ara çıktılarının sahip olduğu özelliklerin tamamından ise elektriksel stimülasyon ve sinyal kaydı fonksiyonları bulunan biyomedikal sistemlerin faydalanabileceği düşünülmektedir.



**Şekil 6.** Projenin gelir modeli.

Projenin ürün halini aldıktan sonraki en önemli kısımlardan biri de ürünün tanıtımı ve pazarlanmasıdır. Bu kapsamda da kullanıcıya ulaşma stratejisi olarak yüzyüze görüşme (potansiyel kullanıcıları ziyaret ve bilimsel kongrelerde stand açma), web sitesi üzerinden satış ve sosyal medya reklamları belirlenmiştir.

Projemizin teknoloji hazırlık seviyesi kapsamında şu anda bulunduğu konum ise THS 3 aşamasındadır. Bununla ilişkili olarak bu projeyi gerçekleştirecek takımın kaptanı olan Aytaç GÜZEL'in yüksek lisans tezi kapsamında yapılması planlanan düzeneğin basit bir versiyonu şu anda geliştirilmekte olup bu yönde çalışmalar halen devam etmektedir. Bu çalışmalarda ortaya çıkan stimülasyon ve kayıt için kullanılan elektronik devreler ve sistemin alt bileşenleri gibi çıktılar ile THS 3 aşamasında olan bu projenin 01.10.2021 tarihinde başlayacağı düşünüldüğünde maksimum 16 ayın sonunda THS 7 aşamasının sonuna gelinebileceği öngörülmektedir.

## 7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

İş Paketi Adı	Başlama Tarihi	Bitiş Tarihi	Süresi (ay)
<b>Elektromekanik Alt Sisteminin Geliştirilmesi</b>	<b>1.10.2021</b>	<b>30.04.2022</b>	<b>7</b>
Kullanılacak Donanımların Belirlenmesi ve Tedarik Edilmesi	1.10.2021	30.11.2021	2
Elektrot Spesifikasyonunun Belirlenmesi	1.12.2021	31.01.2022	2
Stimülasyon ve Ölçüm Devrelerinin Tasarımı ve Gerçeklenmesi	1.01.2022	28.02.2022	2
Hareket Mekanizmasının Mekanik ve Elektronik Bileşenlerinin Tasarımı ve Gerçeklenmesi	1.03.2022	30.04.2022	2
<b>Yazılım Alt Sisteminin Geliştirilmesi</b>	<b>2.05.2022</b>	<b>31.07.2022</b>	<b>3</b>
Kullanıcı Arayüzünün Geliştirilmesi	2.05.2022	31.05.2022	1
Gömülü Yazılımın Geliştirilmesi	1.06.2022	31.07.2022	2
Donanım-Yazılım Optimizasyonu	1.07.2022	31.07.2022	1
<b>Sistem Entegrasyonunun Yapılması</b>	<b>1.08.2022</b>	<b>31.01.2023</b>	<b>6</b>
Ön Prototipin Oluşturulması	1.08.2022	31.08.2022	1
Sistemin Test edilmesi ve Optimizasyonu	1.09.2022	30.11.2022	3
Kalite Testleri	1.11.2022	31.12.2022	2
Son Prototipin Oluşturulması	1.01.2023	31.01.2023	1
<b>TOPLAM</b>			<b>16</b>

**Tablo 2.** İş paketleri ve zamansal dağılımı.

<b>İş Paketi No/Adı</b>	1/Elektromekanik Alt Sisteminin Geliştirilmesi
<b>Başlama-Bitiş Tarihi ve Süresi (ay)</b>	<b>1.10.2021 – 30.04.2022 (7 ay)</b>

### **1. Kullanılacak Donanımların Belirlenmesi ve Tedarik Edilmesi**

Mikrodenetleyici geliştirme kartı, elektronik entegreler, uygun motor ve motor sürücü devreleri üründen beklenen teknik özelliklere göre seçilecektir.

### **2. Elektrot Spesifikasyonunun Belirlenmesi**

Elektrot spesifikasyonundaki değişkenler, elektrotların türü ve dizilimidir. Elektrotların dizilimlerinin nasıl olacağı ise ön çalışmalar ile belirlenecektir. Sistemde kullanılacak olan elektrotların türü gümüş üstü altın kaplama şeklinde olacaktır.

### **3. Stimülasyon ve Ölçüm Devrelerinin Tasarımı ve Gerçeklenmesi**

Sistemdeki çoklu elektrotların sırayla uyarılması ve elektrotlardan kaydın alınması gerekmektedir. Gömülü sistemde farklı frekans ve genliklerde oluşturulan sinyallerin genliği hücreler için uygun seviyelere düşürülecektir. Benzer şekilde elektrotlardan alınacak sinyallerin genlikleri çok düşük olduğundan kartın okuyabileceği genlik aralıklarına yükseltilmesi gerekmektedir. Bu devreler tasarlandıktan sonra benzetim programında çalıştırılacak ve olası hatalar giderilecektir. İstenen sonuçlar alındıktan sonra ise devreler kurulacak ve performans değerlendirilmesinde hata oranı kullanılacaktır.

#### **4. Hareket Mekanizmasının Mekanik ve Elektronik Bileşenlerinin Tasarımı ve Gerçeklenmesi**

Elektrotların bir kuyucuktaki işlemleri tamamladıktan sonra sırasıyla diğer kuyucuklarda da aynı işlemleri tekrarlaması gerekmektedir. Elektrot başlığının, X-Y ekseninde kuyucuklar arası hareketi sağlanacak ve aynı zamanda Z eksenindeki yükseklik ayarlamaları yapılacaktır. Hareketleri gerçekleştirecek olan step motorlar kart tarafından kontrol edilecek olup, sürücü devre üzerinden motorun adımları ayarlanacaktır.

Tasarlanan hareket mekanizması benzetim programında çalıştırılacak, olası hatalar giderilecek ve daha sonra devreleri kurulacaktır. Hareket mekanizmasının mekanik kısmı ise endüstriyel tasarım programlarında tasarlanacak ve reçine bazlı 3B yazıcıda, katmanlı üretim tekniğiyle oluşturulacaktır.

<b>İş Paketi No/Adı</b>	2/Yazılım Alt Sisteminin Geliştirilmesi
<b>Başlama-Bitiş Tarihi ve Süresi (ay)</b>	<b>2.05.2022 – 31.07.2022 (3 ay)</b>

##### **1. Kullanıcı Arayüzünün Geliştirilmesi**

Stimülasyonun genlik ve frekans ayarlaması tasarlanacak arayüz ile gerçekleştirilecektir. Sistem yazılımının kart ile haberleşmesi, verileri toplayabilmesi ve kaydedebilmesi, sinyal işleme ve istatistiksel analizler yapabilmesi, excel formatında dışarı aktarabilmesi, grafik arayüzü aracılığı ile sistem başındaki kullanıcıyla, ağ arayüzü aracılığı ile de uzak kullanıcıyla etkileşimde olması hedeflenmektedir. Sinyal işleme kapsamındaki arayüz fonksiyonları; haritalandırma, elde edilen sinyal ölçüm parametrelerinin X-Y eksenlerinde iki boyutlu ızgara paternine dönüştürülmesi ve yapay nöral ağlar kullanılarak elektrofizyolojik paternlerle histolojik görüntülerin eşleştirilmesidir.

Yazılım dili olarak özgür, açık kaynaklı ve birçok işletim sisteminde çalışabilen Python kullanılacaktır. Python'ın veri analizi ve görselleştirme alanındaki kütüphane zenginliği çalışmaya esneklik katacaktır.

##### **2. Gömülü Yazılımın Geliştirilmesi**

Gömülü sistemin bilgisayar ile haberleşmesi (oluşturulacak sinyalin genlik ve frekans bilgileri ve ölçülen sinyalin bilgisayara aktarılması), gömülü sistemde stimülasyon oluşturulması, devrelere aktarılması ve elektrotlardan gelen sinyallerin kartta okutulması için gerekli olan kodlar yazılacaktır. Gömülü yazılım, ücretsiz geliştirme yazılımı olan STM32CubeIDE ile geliştirilecektir. Geliştirme dili olarak C dili kullanılacaktır.

##### **3. Donanım-Yazılım Optimizasyonu**

Arayüzün, gömülü yazılım ile elektromekanik alt sisteminin birbirine entegre olarak çalışması sağlanacaktır. Arayüzünden verilen stimülasyon ve ölçüm komutları birçok kez denenerek sistemin hızı ve güvenilirliği test edilecektir. Donanım ve yazılımın beraber çalışmasında çıkabilecek sorunlar giderilecek ve yetersiz performans elde edilen noktalar optimize edilecektir.



<b>İş Paketi No/Adı</b>	3/Sistem Entegrasyonunun Yapılması
<b>Başlama-Bitiş Tarihi ve Süresi (ay)</b>	<b>1.08.2022 – 31.01.2023 (6 ay)</b>

### **1.Ön Prototipin Oluşturulması**

Tüm alt bileşenlerin entegre edileceği bütünlük cihazın 3B parametrik modellemesi hazırlanacaktır (FreeCAD vb.). Cihazın parçaları reçine bazlı sert malzemeden katmanlı üretim tekniğiyle (3B yazıcı) üretilecektir.

### **2.Sistemin Test Edilmesi**

Bu aşamada düzenek hücre kültüründe test edilecektir. Sistemin test edilmesi kapsamında geliştirilecek düzeneğin hücreler üzerinde oluşturduğu etkilere bakılacaktır. Bu test için başlıca primer nöron kültür hücreleri seçilecek ve eğer gerekirse bu testlerin sonunda diğer uyandırılabilir hücreler üzerinde de denemeler gerçekleştirilecektir.

Kültür grupları farklı frekans ve şiddet derecesinde uygulanacak stimülasyonlar aracılığıyla belirlenecektir. Stimülasyon sonrasında hücreler üzerinde beklenmeyen etkiler görüldüğü takdirde alternatif stimülasyon paternleri uygulanacaktır. Stimülasyon uygulanan bu hücrelerden aynı zamanda elektriksel alan kaydı da alınacak ve bu değerlerin literatürden elde edilen ideal kayıt değerleriyle benzerliği değerlendirilecektir. Bunun yanı sıra hücrenin stimülasyon uygulanmadan durağan elektrofizyolojik kayıtları da gerçekleştirilecek ve hücrelerin elektriksel aktivasyon paternleri ile kaydedilen değerlerin anlamlılığına bakılacaktır. Sistemde donanımsal veya yazılımsal bir problem görüldüğü takdirde gerekli güncellemeler yapılacaktır.

Kültür gruplarının oluşturulmasında kullanılacak tüm hayvanlar için **Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu**'ndan (**HADYEK**) gerekli onay alınmıştır.

### **3.Kalite Testleri**

Kalite testleri kapsamında sistemin gerçek deney koşullarında hücre kültürü inkübatörü içerisinde, 37 °C sıcaklık ve %80-90 nem oranı koşullarında sürekli çalışabilecek şekilde denemeleri yapılacaktır. Bu koşullarda düzenekte oluşabilecek sorunlar belirlenmeye çalışılacak ve bunlara dönük yapısal iyileştirmeler gerçekleştirilecektir.

### **4.Son Prototipin Oluşturulması**

Ön prototip ve test aşamaları gerçekleştirildikten sonra sistemin yüksek detaylı bir prototipi üretilecektir. Bu aşamada uzun süreli çalışmalara bağlı olarak ilgili parçalarda ortaya çıkabilecek deformasyon ve benzeri sorunlara karşı ön prototipte kullanılan malzemelerde güncellemeler yapılacaktır. Bununla ilişkili olarak malzeme değişimi sonucunda bileşenlerin geometrik uyumunda ortaya çıkabilecek sorunlar son prototip aşamasında giderilecektir.

#	Parça/Malzeme Adı	Açıklama	Özellikler & Notlar	Miktarı (adet)	Birim Maliyet	Toplam Maliyet
Hizmet Alınan	Alt tabla	Hücre kültürü kabı yuvası ve güç adaptörünü barındıran düzeneğin taban kısmı	Alüminyum (7000) ve anodizasyonu	1	1.500,00 TRY	1.500,00 TRY
Hizmet Alınan	Hareketli bileşen dış koruması	Düzeneğin X, Y, Z kolları	Alüminyum (7000) ve anodizasyonu	1	2.300,00 TRY	2.300,00 TRY
Satın Alınan	Gümüş levha	Elektrot üretiminde kullanılacak olan hammadde	10x10x0.75 mm, %99 saflıkta gümüş levha	2	1.500,00 TRY	3.000,00 TRY
Hizmet Alınan	Levha kesim işlemi	Gümüş levhadan özel kesimle elektrot eldesi	Özel kesim gümüş levhanın elektriksel özellikleri üzerinde minimum etkiye sahiptir	1	2.000,00 TRY	2.000,00 TRY
Hizmet Alınan	Elektrotların altın kaplaması	Elde edilen gümüş elektrotların yüzeyinin altın kaplanması	Özel kesim işlemiyle elde edilen elektrotların yüzeyinin kimyasal işlemlerle altın kaplanması	1	300,00 TRY	300,00 TRY
Satın Alınan	Kızaklı step motor	Hareketli kolun X, Y, Z eksenlerinde lineer hareketini sağlayacak olan step motor helezonik kolu ve yayları	Adım açısı 1.8, ağırlığı max. 110 gr	3	1.000,00 TRY	3.000,00 TRY
Satın Alınan	Step motor sürücü kartı	Mikrodenetleyici kontrollü step motor sürücü kartı	Akım sınırlamalı, yüksek akım koruması ve 5 farklı mikrostep çözünürlüğü	3	100,00 TRY	300,00 TRY
Satın Alınan	Gerilim regülatörü	Elektronik devreler için besleme gerilimi sağlanması	5 V ve min. 1 A	2	50,00 TRY	100,00 TRY
Satın Alınan	Mikrodenetleyici	Düzeneklerin kontrolü için kullanılacak olan gömülü sistem	256 kb flaş hafıza, ADC (25 kanal ve 12 bit çözünürlük), DAC (3 kanal ve 12 bit çözünürlük) ve USART birimleri, 48 kb RAM	1	350,00 TRY	350,00 TRY
Hizmet Alınan	PCB Basımı	Elektronik devrelerin PCB devre kartına aktarımı	Not: Devre boyutunun küçülmesi ve gürültünün azaltılması	1	100,00 TRY	100,00 TRY
Satın Alınan	Elektronik entegreler	Elektronik devrelerin tasarımında kullanılacak entegreler	Minimum 80 dB CMRR	10	55,00 TRY	550,00 TRY
Hizmet Alınan	Elektrot dizisi soketi	Düzenekten çıkartılıp takılabilen, 3B yazıcıyla üretilecek olan elektrot tutucu gövde	Tekrarlayan kullanımlar için aşınmaya dayanıklı ve 120 ° C sıcaklıkta sterilize edilebilen malzemeden üretilecektir.	1	450,00 TRY	450,00 TRY
Satın Alınan	Deney hayvanı (yenidoğan)	Primer nöron kültürünün hazırlanması için kullanılacaktır.	Düzeneğin gerekli testlerinin yapılması için gereklidir.	50	50,00 TRY	2.500,00 TRY
Satın Alınan	Neurobasal-A Medium	Primer nöron kültürünün hazırlanması için kullanılacaktır.	Düzeneğin gerekli testlerinin yapılması için gereklidir.	3	1.400,00 TRY	4.200,00 TRY
Satın Alınan	FGF (Fibroblast Growth Factor)	Primer nöron kültürünün hazırlanması için kullanılacaktır.	Düzeneğin gerekli testlerinin yapılması için gereklidir.	2	2.100,00 TRY	4.200,00 TRY
Satın Alınan	B-27 Supplement	Primer nöron kültürünün hazırlanması için kullanılacaktır.	Düzeneğin gerekli testlerinin yapılması için gereklidir.	3	800,00 TRY	2.400,00 TRY
Satın Alınan	Hücre kültürü muhtelif sarf malzemeleri (kültür kabı, poly l-lysine, Pen-Strep antibiyotik, şırınga filtresi)	Primer nöron kültürünün hazırlanması için kullanılacaktır.	Hücre kültürünün yapılması için gerekli miktar sarf malzemesi başlığı altında toplu olarak verilmiştir.	1	4.000,00 TRY	4.000,00 TRY
Satın Alınan	3B Yazıcı Reçinesi ve reçine tankı	Ön prototipin üretimi ve son prototipin uygun parçalarının üretilmesi	Reçineler ön prototipin tamamının ve son prototipin uygun (plastik) parçalarının üretilmesinde kullanılacaktır.	2	3.500,00 TRY	7.000,00 TRY
			<b>Toplam Maliyet</b>			38.250,00 TRY

**Tablo 3.** Kullanılacak malzemeler ve toplam maliyet.

İn Vitro Temassız Elektriksel Stimülasyon ve Kayıt Düzeneği					
Maliyet Kalemi	2021		2022-2023		TOPLAM (TL)
	I	II	I	II	
Malzeme		₺5.000,00	₺8.950,00	₺24.300,00	38.250,00 ₺

**Tablo 4.** Maliyetin dönemsel dağılımı.

	Maestro 384-Edge	Multiwell MEA System	Basit Düzenekler	İn Vitro Temassız Elektriksel Stimülasyon ve Kayıt Düzeneği
Satış Fiyatı	74.500 €	73.899 €	Bilinmiyor	80.000 ₺ (Planlanan)

**Tablo 5.** İn vitro temassız elektriksel stimülasyon ve kayıt düzeneği ile benzer ürünler arasındaki satış fiyatı karşılaştırması. (Not: Fiyat bilgileri geliştireceğimiz cihaza en yakın ürünleri üreten Axion ve Smart Ephys firmaları ile yapılan görüşmeler sonucunda elde edilmiş olup modellere göre farklılıklar göstermektedir.)

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

Ortaya koymak istediğimiz projenin hedef kitlesi oldukça geniştir. Potansiyel kullanıcılar temelde sağlık ve biyolojik bilimler alanında özelde ise fizyoloji, sinirbilim, nöroloji, kardiyoloji ve eczacılık alanında hem yurtiçinde hem de yurtdışında temel araştırmalar (elektrofizyolojik çalışmalar) yürüten, kamu ve özel sektöre ait laboratuvarlarda çalışan akademisyenler ve araştırmacılarıdır. Bunun yanında kurumsal olarak üniversiteler ve sağlık sektöründe yer alan ilaç geliştirme şirketlerini de potansiyel kullanıcılar olarak öngörmekteyiz.

## 9. Riskler

	RİSKLER	AÇIKLAMA
1	Takım üyelerinin yetkinliklerine bağlı riskler	Danışman ve takım üyesinin yetkinliklerine bakıldığında özellikle takımın elektronik ve yazılım anlamındaki yetkinlikleri yeterli değilmiş gibi gözükmesine ve bu konunun bir risk faktörü olarak ortaya çıkma ihtimali bulunmasına rağmen danışman olan üyenin E.Ü.

		<p>Teknopark'ta kurumsal bir yazılım şirketine sahip olması ve yine bu projenin hazırlanması süresince E.Ü. Müh. Fak. Elektrik-Elektronik Bölümü bağlantılarımızdan aldığımız danışmanlığın proje kabulü aldıktan sonra çalışmaya tam anlamıyla dahil edilmesiyle bu risk ihtimalinin minimuma indirgenmesi hedeflenmektedir.</p>
2	Elektroda bağlı riskler	<p>Kullanılması planlanan gümüş üzeri altın kaplama elektrotların gerçek ortamda, stimülasyona bağlı olarak kolay bir şekilde korozyona uğraması durumunda elektrotların alternatif yollarla kaplanması veya ön çalışmalarda denenecek olan başka elektrot türleriyle değiştirilmesi planlanmaktadır.</p>
3	Sinyal kaydının nemli ortamda hatalı sonuç vermesi riski	<p>Sinyallerin gerçek ortam olan inkübatör içerisindeki testlerinde ortama bağlı olarak hatalı sonuç vermesi durumunda elektronik devreler ve kabloların termoplastik malzeme ile izolasyonu yoluna gidilecektir. Bunun dışında parazitlerin giderilmesi için filtre algoritmalarının geliştirilmesi veya bir tür Faraday kafesinin tasarlanması düşünülmektedir.</p>
4	Kullanılacak malzemelerin sterilizasyonuna bağlı riskler	<p>Hücrelerin kontamine olmaması için yapılan alkol sterilizasyonu tekniklerinin malzemelerde bir sorun yaratması durumunda malzemelerin sterilizasyonu hidrojen peroksit veya UV ışınları ile gerçekleştirilecektir.</p>
5	Malzemelerin gerçek ortamdaki testleri sırasında deformasyon ve benzeri sorunların ortaya çıkma riski	<p>Düzeneğin gerçek ortamda ve uzun süreli testleri sırasında deformasyon ve benzeri sorunların olduğu takdirde ön prototipteki malzemelerin değişimine gidilecektir.</p>



## 10. Kaynaklar

- Chen, C., Bai, X., Ding, Y., & Lee, I. S. (2019). Electrical stimulation as a novel tool for regulating cell behavior in tissue engineering. *Biomaterials Research*, 23(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0176-8>
- Lee, H. U., Blasiak, A., Agrawal, D. R., Loong, D. T. B., Thakor, N. V., All, A. H., Ho, J. S., & Yang, I. H. (2017). Subcellular electrical stimulation of neurons enhances the myelination of axons by oligodendrocytes. *PLoS ONE*, 12(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179642>
- Lu, H. C., Chang, W. J., Chang, W. P., & Shyu, B. C. (2016). Direct-current stimulation and multi-electrode array recording of seizure-like activity in mice brain slice preparation. *Journal of Visualized Experiments*, 2016(112), 53709. <https://doi.org/10.3791/53709>
- Maestro Edge MEA and Live-Cell Analysis System | Axion Biosystems. (n.d.). Retrieved June 16, 2021, from <https://www.axionbiosystems.com/products/systems/maestro-edge>
- Marotta, M., Bragós, R., & Gómez-Foix, A. M. (2004). Design and performance of an electrical stimulator for long-term contraction of cultured muscle cells. *BioTechniques*, 36(1), 68–73. <https://doi.org/10.2144/04361st01>
- Mobini, S., Leppik, L., & Barker, J. H. (2016). Direct current electrical stimulation chamber for treating cells in vitro. *BioTechniques*, 60(2), 95–98. <https://doi.org/10.2144/000114382>
- Multiwell-MEA-System | [www.multichannelsystems.com](http://www.multichannelsystems.com). (n.d.). Retrieved June 16, 2021, from <https://www.multichannelsystems.com/products/multiwell-mea-system>
- Thrivikraman, G., Boda, S. K., & Basu, B. (2018). Unraveling the mechanistic effects of electric field stimulation towards directing stem cell fate and function: A tissue engineering perspective. *Biomaterials*, 150, 60–86. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.10.003>
- Vallejo, R., Platt, D. C., Rink, J. A., Jones, M. A., Kelley, C. A., Gupta, A., Cass, C. L., Eichenberg, K., Vallejo, A., Smith, W. J., Benyamin, R., & Cedeño, D. L. (2019). Electrical stimulation of C6 glia-precursor cells in vitro differentially modulates gene expression related to chronic pain pathways. *Brain Sciences*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/brainsci9110303>