

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

PROJE KATEGORİSİ

TAKIM ADI

GraFEB

PROJE ADI

HIZLI TESPİT BİYOSENSÖRÜ

BAŞVURU NUMARASI

55229

KATEGORİ

PROJE

İçindekiler

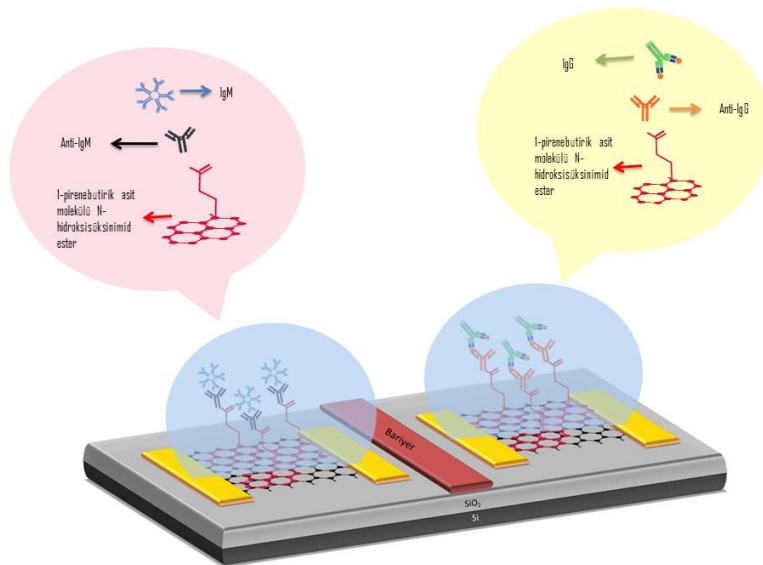
1. Proje Özeti (Proje Tanımı)	3
2. Problem/Sorun	4
3. Çözüm	4
4. Yöntem	6
4.1. Kimyasal Buhar Biriktirme (CVD) Yöntemi ile Grafen Üretimi	6
4.2. Grafenin, Tasarlanan SiO₂ Substrat Üzerine Transfer Edilmesi	7
4.3. Fotolitografi Yöntemi ile SiO₂ Substrat Üzerine Elektrotların Geliştirilmesi	8
4.4. GFET Yüzeyinin Reseptör Biyomoleküllerin Tutulması için Modifikasyonu	9
4.5. GFET Yüzeyinin Reseptör Biyomoleküller ile Fonksiyonelleştirilmesi	9
4.6. Cep Telefonu Üzerinden Veri Okunması	10
5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü	10
6. Uygulanabilirlik	11
7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması	12
8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar)	13
9. Riskler	14
10. Kaynaklar	14



1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Bağışıklık sistemimiz, vücudumuzu bakteriler, virüsler ve alerjenlere karşı korumak için farklı antikorlar veya immunoglobulinler üretmektedir. Vücudumuzun ürettiği 5 farklı immunoglobulinlerden, İmmunoglobulin M (IgM) ve İmmunoglobulin G (IgG) hastalığın erken evresinde ortaya çıkarak hastalığı nötralize etmekten sorumludurlar. Dolaylı olarak immunoglobulinlerin tespitinin, bazı hastalıkların tanı aşamasında kullanılması, önemli klinik değerlere sahiptir ve hızlı tanı için hayati bir rol oynamaktadır.

Genel olarak immunoglobulin miktarları, yüksek doğruluk avantajına sahip olan Enzime Bağlı İmmünosorban Testi (ELISA) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) kullanılarak ölçülmektedir. Bu yöntemlerin yüksek doğruluğa sahip olmasına karşın, test süresinin uzun olması, değerlendirme için bir laboratuvar ortamına ihtiyaç duyulması ve çok adımlı ölçüm yöntemleri olması sebebiyle teşhis süresinin uzun olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Aynı zamanda yüksek maliyeti ve uzman kişilerce uygulanma gereksinimi gibi nedenlerden dolayı geniş kesimler tarafından ulaşılabilirliğini ve kullanımını zorlaştırmaktadır. **Proje önerimizde, grafen tabanlı “Grafen Alan Etkili Transistör (GFET)” biyosensör platformu geliştirilerek, cep telefonu üzerinden verilerin değerlendirilmesi için bir yazılım ve elektronik platform ile entegre edilecektir (Şekil 1). Böylece, enfeksiyonel hastalıkların takibi için bir dijital takip sistemli biyosensör geliştirilecektir.** Bununla birlikte, göreceli olarak kolay üretim yöntemi, hızlı, doğru, hassas bir şekilde sonuç verebilmesi ve değerlendirme sürecinde uzmanlık gerektirmemesi gibi avantajları nedeniyle, teşhis ve takip aşamasında ortaya çıkacak sorunlara bir çözüm oluşturacağını düşünmekteyiz. **Ayrıca geliştirilecek bu biyosensör platformunun, hastalığı ortaya çıkarmanın yanı sıra hastalığın seyrinin takibi için de kullanılması amaçlanmaktadır.** Bunun yanında grafenin, FET’in kaynak (source)-drenaj (drain) kanalında kullanılması, transistörün iletkenliğinin artmasını ve buna bağlı olarak biyosensörlerin temel özelliği olan hassasiyetin de artırılmasını sağlayacaktır. Bu hassasiyet artışı, tepkisel değişimleri en iyi ve en doğru şekilde sonuç verecek hale getirecektir.



Şekil 1: Dual (İkili) yapılı IgM ve IgG tespit biyosensörü şematik gösterimi.

Genel hastalıkların yanı sıra şu anda tüm dünya üzerinde ve ülkemizde pandemi haline gelmiş olan Korona virüs (COVID-19) salgınında SARS-CoV-2 virüsü, daha önce yaşanan MERS ve SARS salgınına neden olan virüs ailesine ait olduğundan, antikor üretim sürecinin de benzer olduğu ve IgG-IgM'nin SARS-CoV-2'ye karşı tespitinde de etkili olacağı bilinmektedir. Ayrıca, hasta vücudunda IgM antikorlarının saptanması, SARS-CoV-2'ye yakın bir zamanda maruz kalmayı gösterirken, IgG antikorlarının saptanması, virüsün daha uzun süre önce vücuda girdiğini göstermektedir.

Bu göstergeler ışığında, projemizin amacını da oluşturan aynı anda hem IgM hem de IgG immunoglobulinlerinin belirlenmesi enfeksiyon hastalıklarının zaman seyri hakkında bilgi sağlayabilecektir. Dolayısıyla, SARS-CoV, MERS-CoV ve şu anda etkili olan SARS-CoV-2 gibi genel virüs salgınlarında çok sayıda test yapmanın oldukça önemli olduğu ve bu testin düşük maliyetli temin edilebilmesinin yanında, hızlı ve doğru bir yöntem ile gerçekleştirilmesinin kaçınılmaz bir gereklilik olduğu görülmektedir. Hem IgM hem de IgG immunoglobulinlerinin biyosensör kullanılarak hızlı tespiti, viral hastalıkların tanı ve tedavisi açısından oldukça önemli bir tespit yöntemi olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte üreteceğimiz biyosensör platformunun dijital ve akıllı sistemlerle entegre edilmesi, hastaneden taburcu olan hastaların dijital takibinde de bu antikor miktarlarının belirlenmesi için en uygun takip aracı olacaktır.

2. Problem/Sorun:

Canlılarda bağışıklık sistemi, bakteriler, virüsler ve alerjenler gibi yabancı istilacıların vücut içerisine girdiğinde onlarla savaşmak için farklı antikorlar üretir. Bağışıklık sisteminde bulunan patojen enfeksiyonlarına karşı antikorların sayıları insan vücudunu hastalıklardan korumak için önemli ölçüde artmaktadır (Janeway vd. 2001).

Antikor çeşitlerinden İmmunoglobulin M (IgM), vücudumuzda bulunan en büyük ve vücudumuzun bir patojene maruz kalmasından sonra ortaya çıkan ilk immunoglobulindir. İmmunoglobulin M'nin seviyesi bazı hastalıkların tanısında çok önemli klinik değerlere sahiptir ve hızlı tanı için hayati bir rol oynamaktadır (Lima vd., 2012). Ayrıca IgM eksikliği tespit edilen hastalarda uzun süreli ve ölümcül enfeksiyonun gelişme olasılığı yüksektir. Dolayısıyla IgM eksikliği, enfeksiyon ile ilişkili ciddi bir bağışıklık sistemi bozukluğudur (Ehrenstein ve Notley, 2010). İmmunoglobulin G (IgG) ise insan vücudunun patojene maruz kalmasıyla birlikte üretilen IgM'den sonra ortaya çıkarak, patojenlere karşı bol miktarda üretilen bir diğer antikor çeşididir (Racine ve Winslow, 2009). Bu bilgiler ışığında hem IgM miktarının hem de IgG miktarının tespiti çeşitli enfeksiyonların seyri hakkında bilgi sağlayabilmektedir.

Antikorların tespiti için en sık kullanılan yöntemler Enzime Bağlı İmmünosorban Testi (ELISA) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemleridir (Hermanson, 2013). ELISA testinde yöntemin doğruluğunun yüksek olma avantajına karşın, test süresinin uzun olması, bir laboratuvar ortamına ihtiyaç duyulması, maliyetli bir test yöntemi olması ve uzman kişilere gereksinimi nedeniyle geniş kesimler tarafından ulaşılabilmesi oldukça zor olan bir yöntemdir. Ayrıca ELISA testinin, hastalık şüphesi duyulan bireylerde sonucun negatif çıkması durumunda tekrarlanması gerekmektedir. Sıklıkla kullanılan bir diğer yöntem olan PCR'da ise sertifikalı bir laboratuvar ortamına, pahalı ekipmanlara ve uzman kişilere gereksiniminin yanında her bir ölçüm süresi yaklaşık 3 saat süre gerektirmesi gibi olumsuzluklar söz konusudur. Ölçüm yöntemlerindeki bu kısıtlayıcı yönler, hastalığın tespitini sağlayacak test alternatiflerine olan ihtiyacı ortaya çıkarmaktadır.

3. Çözüm

Belirtilen tüm bu sorunlara, tasarladığımız GFET biyosensör platformu ile çözüm getirmeyi hedeflemekteyiz. GFET biyosensör platformu, alternatif tespit yöntemleri ile karşılaştırıldığında, birçok olağanüstü özelliğe sahip grafen malzemesi sayesinde çok daha hızlı ve hassas tespit yapılabilmesine olanak sağlamaktadır. Kullanılacak olan antikorlar (anti-IgG, anti-IgM), moleküle özgü olup farklı bir molekülle etkileşmemesi sayesinde sensörün spesifitesini güçlendirmektedir. Bu sayede hassasiyetin iyileştirilmesi ile yapılan testlerin tekrarlanma durumunun önüne geçilmiş

olunacaktır. Test tekrarlarının azaltılmasıyla sağlık sisteminin maddi yükünün azalacağı öngörülmektedir. Hızlı tespit süresi ise durumu kritik olabilecek hastalar için ayrı bir önem taşımaktadır.

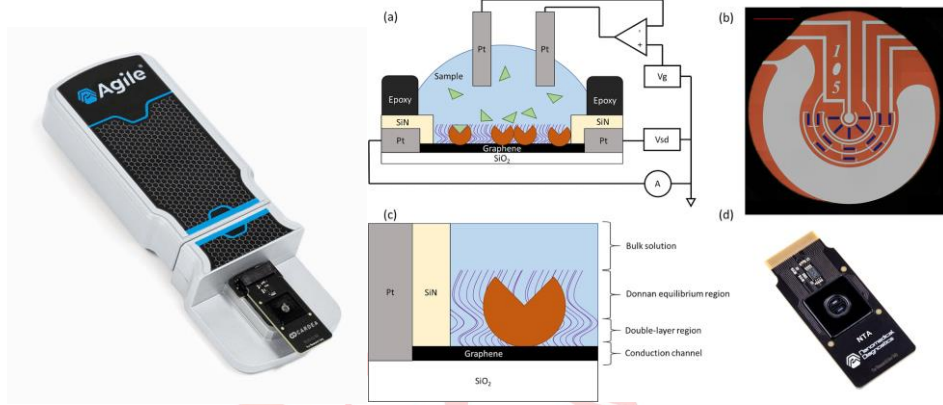
Ayrıca GFET biyosensör platformu, kullanıcılar için çok daha kolay bir kullanım sağlarken, bu platform sayesinde sonuçların değerlendirilmesi için uzman kişilere gerek duyulmayacaktır. Bu sayede hastaların eş zamanlı olarak alabilecekleri test sonuçları, hastanelerin ve laboratuvar ortamlarının iş yükünün hafifletilmesini sağlayacaktır. Geliştirilecek biyosensör platformunun hastalık teşhisinin yanında var olan hastalığın seyrinin takibi için de aktif bir şekilde kullanılması amaçlanmaktadır. Tanı, takip, koruma ve önleme sayesinde toplum sağlığının iyileştirilmesi hedeflenmektedir.

Literatüre bakıldığında Alan Etkili Transistör (FET) prensipleri ilk olarak 1930'da Lilienfeld tarafından öne sürülmüştür (J. E. Lilienfeld, 1930). FET'ler genellikle üç elektrotlu cihazlardır. Bu elektrotlar Source (kaynak), Drain (drenaj) ve Gate (kapı) olarak adlandırılır. Temel olarak FET, bir plaka üzerinde bulunan Source ve Drain elektrotları arasında iletken bir kanal olan ve temel anlamda iletken-yalıtkan-yarıiletken bir yapıya sahip olmasından dolayı bir kapasitör gibi çalışmaktadır. Bu iletken kanaldaki yük taşıyıcıların yoğunluğu, kapasitörün ikinci plakası olarak düşünebileceğimiz Gate elektrotuna uygulanan voltaj ile modüle edilebilmektedir. 1960 yılında Kahng ve Atalla (Kahng ve Atalla, 1960) ilk silikon bazlı metal oksit-yarıiletken FET (MOSFET)'i üretmişlerdir. Günümüzde MOSFET, hem cihazlar hem de entegre devreler olarak modern mikroelektronikğin en önemli bileşenlerinden birisidir. Geleneksel bir Metal Oksit Yarıiletken FET (MOSFET) yapısını temel alan iyon duyarlı bir FET biyosensörlerin prensibi ilk olarak 1970 yılında Bergveld tarafından rapor edilmiştir (Bergveld, 1970) ve yine 1976'da enzim FET'lerinin incelenmesi Janata ve Moss tarafından yaptıkları çalışmalarında tartışılmıştır (Janata ve Moss, 1976). Caras ve Janata 1980 yılında penisilin testi için, pH tabanlı enzim içeren FET tipi bir biyosensörün ilk pratik kullanımını tarif etmişlerdir (Caras ve Janata, 1980). Bu çalışmadan sonra FET temelli farklı tip analitler için biyosensör çalışmaları yapılmıştır (Sarkar, 2000; Setford vd., 2002; Marrakchi vd., 2006). Tüm bu çalışmalar ile ortaya çıkan olağanüstü elektriksel özellikleri ve boyutları nedeni ile FET tipi biyosensörlerin klinik tanı ve yerinde tespit noktasında oldukça yararlı olduğu düşünülmektedir.

Son yıllarda grafen temelli çalışmalar birçok alanda, grafenin üstün özelliklerinden dolayı sıklıkla yapılmaya başlanmıştır. FET'ler ilgili araştırmalarda Source ve Drain kanalına yerleştirilen grafen ile yeni tür Grafen Temelli Alan Etkili Transistör (GFET)'lerin üstün özellikleri nedeniyle büyük ilgi çekmektedir (Pumera, 2011). Grafenin kristal yapısı, tek tabaka karbon atomlarının altıgen petek örgüsünde, sp^2 hibridizasyonuna sahip, 2 boyutlu düzlemsel yapı olarak tanımlanmaktadır (Geim ve Novoselov 2007; Novoselov vd. 2004). Grafenin bu kristal yapısı nedeniyle üstün fiziksel özelliklere sahip olduğu bulunmuştur. Grafen, ambipolar elektrik alan etkisi gösteren, sıfır bant aralıklı bir yarı iletkenidir. Burada yük taşıyıcıları, ortam koşullarına bağlı olarak $15000 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ üzerinde bir mobiliteye, 10^{13} cm^{-2} 'ye kadar konsantrasyona sahip, sürekli olarak bu mobilitenin ayarlanabilir deşikler ve elektronlardan oluşmaktadır (Geim, 2007; Novoselov vd., 2004; Neto vd., 2009). Bu ambipolar karakteristik, grafenin hem elektron verici hem de elektron çekici türlerle karşı elektriksel duyarlılığını göstermektedir. Ayrıca, grafenin kimyasal stabilitesi, malzemenin düşük voltaj altında çözelti içinde oksidasyona karşı koymasına izin vererek, elektrikli bir pasivizasyon tabakası ihtiyacını ortadan kaldırmaktadır. Grafenin yüksek kimyasal stabilitesi, benzersiz elektriksel özellikleri, nano ölçekli kalınlığı ve geniş yüzey alanı, nanomalzemenin FET tabanlı biyolojik algılamadaki potansiyelini göstermektedir (Liu ve Guo, 2012). GFET'te bir karbon atomu kalınlığına sahip olmasından dolayı tüm kanal bir yüzey gibi davranacağı için bir nüfuz etme derinliğine ihtiyaç duymayacaktır. Bu da ortamdaki atom veya moleküllerin kanal ile direk etkileşimi anlamına gelmektedir. Böylece sensörün cevap süresi kısalmaya ve hassasiyet yükselecektir. Bu hassasiyet artışı GFET'lerin FET'lere göre daha yüksek bir yük taşıyıcı yoğunluğuna sahip olmalarından da kaynaklanmaktadır. Grafenin geliştirici özellikleri sonucunda GFET'ler yüksek bir hassasiyete sahiptirler ve bundan dolayı foto-sensör, manyetik-sensör ve biyosensör gibi birçok uygulamada kullanılmaktadırlar. Biyosensör uygulamalarında, Drain-Source kanalında glikoz, sitokrom-C, hemoglobin, kolesterol ve hidrojen peroksit gibi moleküllerin yüzeydeki reseptörlere bağlanarak saptaması gerçekleştirilmektedir. Bu

moleküller grafen kanala bağlandığında transistörün iletkenliğini ve genel olarak transistör özelliklerini değiştirmektedir.

Benzer bir yapıda küçük moleküllerin saptanması için geliştirilen GFET tabanlı biyosensör platformu, Amerika menşeli NANOMED firması tarafından ticari olarak üretilip satışa sunulmuştur (Şekil 2) (<https://nanomedical.com/agile/>)



Şekil 2: Nanomed firmasına ait GFET tabanlı biyosensör (<https://nanomedical.com/agile/>).

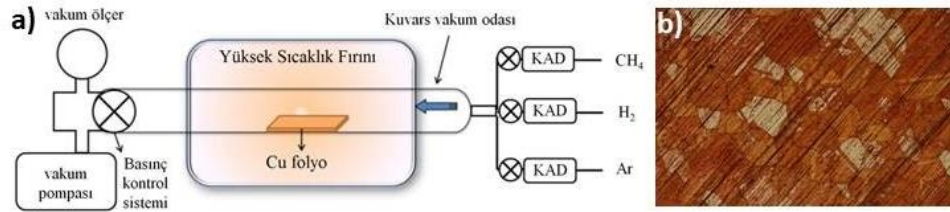
Projemizde GFET biyosensör platformunun akıllı sistemlere entegrasyonu ve sonuçların değerlendirilmesi için elektronik devre ile bir yazılım geliştirilecektir. Uzaktan değerlendirme ve tanı sistemlerine en çok ihtiyaç duyduğumuz pandemi sürecinde, tele-tıpın önemi daha iyi anlaşılmaktadır. Ayrıca biyosensörün, bir yazılım ile cep telefonuna entegre edilmesi sayesinde, sonuçların doktor tarafından uzaktan klinik değerlendirme yapılabilme potansiyeline sahiptir.

4. Yöntem

4.1 Kimyasal Buhar Biriktirme (CVD) Yöntemi ile Grafen Üretimi

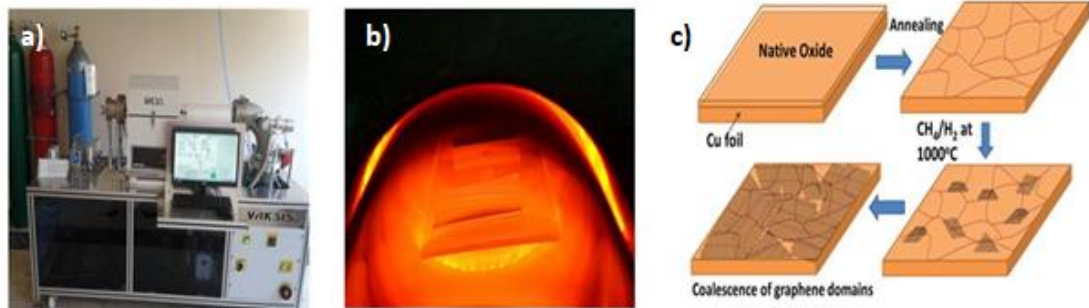
Üreteceğimiz GFET biyosensörü için CVD yöntemi ile tek katmanlı olarak grafen üretilmektedir. Grafenin üretiminde aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya olmak üzere birçok yöntem bulunsa da ucuz, verimli, oldukça kaliteli, tekrarlanabilir bir üretim metodu olan termal kimyasal buhar biriktirme metodu tercih edilecektir. Proje ekibimizle birlikte uzun yıllardır CVD yöntemi ile grafen üretimi konusunda deneyime sahip olup yaptığımız işlem süreci aşağıda anlatılmaktadır (Şekil 3a ve Şekil 4).

Üretim aşamasında karbon kaynağı olarak metan (CH_4) gazı ve katalizör olarak maliyeti ve ulaşılabilirliğinin yanında tek tabakalı grafen tabakası elde edilmesi için self-control özelliğiyle bilinen 0.025 mm kalınlığında saf bakır (Cu) altaşlar (foliyolar) kullanılacaktır. Bakır folyolar CVD cihazına koyulmadan önce 10 dakika asetik asit ile muamele edilerek yüzeyde bulunan oksit tabakasının giderilmesi ve Cu grainlerin oluşturulması sağlanacak ve sonrasında sırasıyla aseton, izopropanol ve saf su içerisinde 10'ar dakika olmak üzere ultrasonik temizleyicide ön temizlemeden geçirilecektir. Temizlenen Cu folyolar quartz bot yardımıyla CVD tüp içerisine yerleştirilecek ve sistem 10^{-6} Torr basınca vakumlanarak sistem içerisindeki yabancı atomların ve su moleküllerinin uzaklaştırılması sağlanacaktır. Sisteme Argon ile taşıyıcı gaz olarak H_2 gazı bilgisayar kontrollü olarak verilecek ve düşük basınç altına vakumlanan sistem 1000°C sıcaklığa getirilerek önceden yerleştirilmiş olan Cu folyolar üzerinde çekirdek oluşması ve büyümesi sağlanmış olacaktır. 1000°C deki sistemden 30 dakika boyunca belirli gaz akışlarında karbon kaynağı olarak CH_4 gazı geçirilecektir. Bu sürenin sonunda, fırın kapatılıp yan tarafa kaydırılarak, Cu folyonun hızla soğumasına izin verilip, Cu folyo üzerinde grafen tabakası oluşturulacaktır (Şekil 3b). Sistemin sıcaklığı 150°C 'ye ulaştığında H_2 ve CH_4 gaz akışları kapatılacaktır. Oda sıcaklığına ulaştığında Cu folyolar sistemin içerisinden alınacaktır (Ünlü, 2019).



Şekil 3: a) Kimyasal Buhar Biriktirme (CVD) yönteminin şematik gösterimi. **b)** Ön çalışma sonucu Grafen kaplı Cu folyonun optik mikroskop görüntüsü.

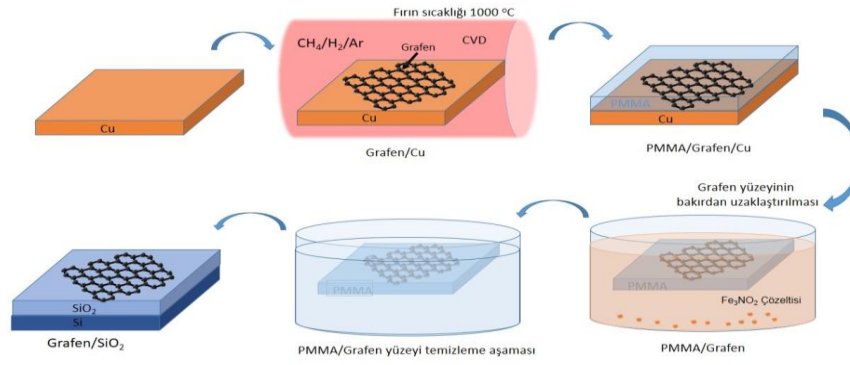
Deneyler Pamukkale Üniversitesi Biyo-Nano Malzeme Laboratuvarı'nda yürütülecektir. Elde edilen grafen, transistör yapısını oluşturabilmek için farklı oksit kalınlıklarında hazırlanmış Si/SiO₂ altaşlarına transfer edilecek ve fotolitografi yöntemiyle farklı kanal genişliklerinde source-drain altın/krom (Au/Cr) elektrotları oluşturulacaktır. Elde edilen transistör yapısı için çeşitli yapısal analizler (Raman spektroskopisi, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)) yapılacak ve yapısı belirlenmiş aygıtların transistör ölçümleri (akım-voltaj) gerçekleştirilerek karakterizasyonları tamamlanacaktır.



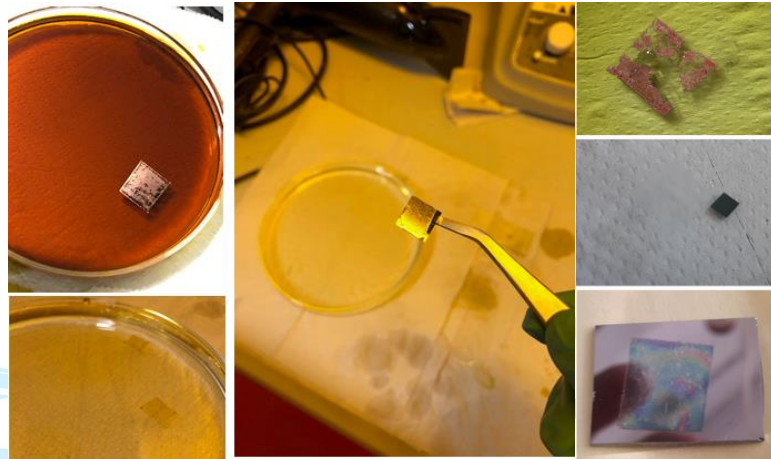
Şekil 4: a-b) Projede kullanılacak olan Kimyasal Buhar Biriktirme (CVD) sistemi ve **c)** grafen kaplama işleminin şematik gösterimi.

4.2 Grafenin, Tasarlanan SiO₂ Substrat Üzerine Transfer Edilmesi

Kimyasal buhar biriktirme yöntemi ile Cu folyolar üzerinde üretilmiş olan grafen tabakaları, istenilen altaşlar üzerine transfer edilebilmektedir. Alan etkili transistör biyosensör tabakası olarak SiO₂ altaşlar üzerine grafen transferi birkaç aşamada gerçekleştirilecektir. İlk aşama olarak Cu folyo ile grafen tabakasının birbirinden ayrılması gerekmektedir. Grafen tabakası, yoğun olan tarafın bozulmaması için %5'lik polimetilmetakrilat (PMMA) çözeltisi hazırlanarak döner kaplama (spin coating) yöntemi ile 4000 rpm'de ve 40 saniye sürede homojen olarak kaplanacaktır. Burada kullanılan PMMA, grafen tabakasının zarar görmeden Cu folyodan ayrılabilmesi için grafen tabakasına destek malzemesidir. Bakırın PMMA ile kaplanmayan tarafındaki grafenin yok edilmesi için oksijen plazma yöntemi kullanılacaktır. Ardından Cu'nun dağlama işlemi için 200 g Fe(III) nitratnonahidrat (Fe₃NO₂) ve 400 ml deiyonize su çözeltisi hazırlanacaktır. Bu çözelti içine Cu folyo bırakılarak 24 saat beklemeye alınacaktır. Bu süre sonunda Cu tamamen dağlanıp sadece PMMA kaplı grafen elde edilecektir. Elde edilen PMMA kaplanmış grafen metal kalıntılardan arındırılması için 2 ml %2'lik HCl çözeltisi ve 15 ml deiyonize sudan oluşan sulu çözelti hazırlanarak çözelti içine bırakılacaktır. 10 dakika boyunca çözelti içerisinde bekletildikten sonra deiyonize su içerisine aktarılarak bu işlem ardarda iki kez 10'ar dakikalık, toplamda 20 dakika boyunca yıkama işlemi gerçekleştirilecektir. Daldırılıp alma yöntemi ile PMMA kaplı grafenin SiO₂ altaşlar üzerine transferi yapılacaktır. Grafen üzerindeki PMMA tabakasından kurtulmak için %99,9 saflıktaki asetonda 40°C sıcaklıkta 30 dakika bekletilecek ve yıkama işlemi gerçekleştirilecektir. Böylece istenilen boyutta altaşların üzerine grafen tabakası transfer edilmiş olacaktır (Ünlü, 2019).



Şekil 5: Bakır folyo üzerine kaplanan grafenin Si/SiO₂ alttaşı üzerine transfer işleminin şematik gösterimi.

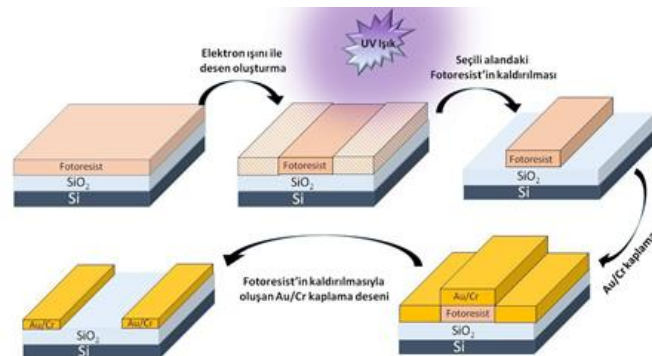


Şekil 6: Ön çalışma sonucu Grafenin SiO₂ alttaşı üzerine transferi.

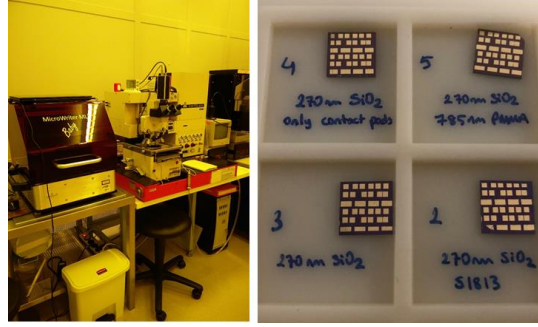
4.3 Fotolitografi Yöntemi ile SiO₂ Substrat Üzerine Elektrotların Geliştirilmesi

Biyosensör platformunun alt tabakasını oluşturmak için SiO₂ alttaşı üzerine Fotolitografi Yöntemiyle, önceden çizimleri gerçekleştirilmiş 2 boyutlu istenilen desende yapılar geliştirilmesi işlemi uygulanacaktır. Fotolitografi işlemi için foto direnç olarak adlandırılan UV ışığa duyarlı bir fotorezist materyal (S1813 pozitif fotorezist), spin coating yöntemi ile yüzeye kaplanacaktır ve sadece tanımlanan bölgelerin gelen ışına maruz kalmasına izin veren bir maske tasarlanacaktır. Farklı lensler ile maskeden geçen ışığın istenilen boyutlara indirgenip odaklanması sağlanarak, SiO₂ üzerine ışın düştüğü bölgelerde ışığa duyarlı maddenin seçilen maske tipine göre, yüzeyden kalkmasıyla ya da sertleşerek substrata yapışmasıyla istenilen desende yapılar oluşturulacaktır (Güvener, 2011).

Işığa maruz kalan fotorezist tabakanın SiO₂ yüzeyden kaldırılması aşamasından sonra tüm yüzey Termal Buhar Biriktirme yöntemiyle Au/Cr ile kaplanacaktır. Son olarak yüzeyi Au/Cr ile kaplanan fotorezist tabakanın da SiO₂ alttaşı yüzeyinden kaldırılması ile istenilen elektrot deseni SiO₂ yüzeyinde oluşturulacaktır (Şekil 7). Yapının doğrulanması için Raman Mapping ve SEM yöntemleri kullanılacaktır.



Şekil 7: Fotolitografi yöntemi ile SiO₂ alttaşı üzerine Au/Cr yapılarının büyütülmesinin şematik gösterimi.

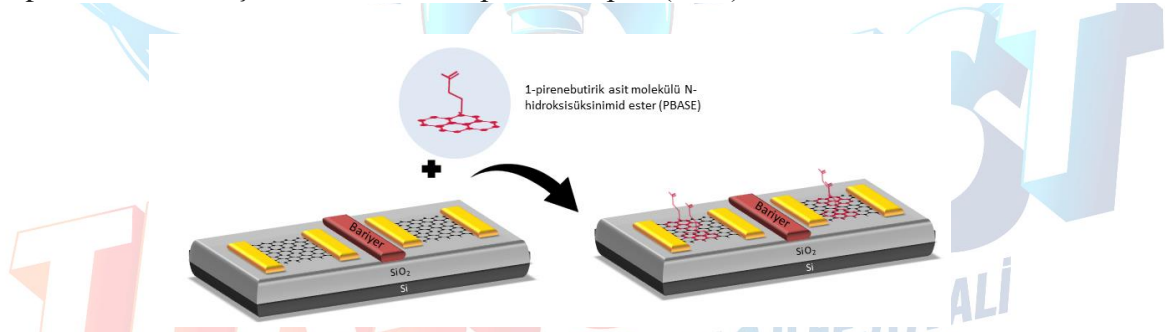


Şekil 8: Ön çalışma sonucu farklı oksit kalınlıklarında ve farklı kanal genişliklerinde SiO₂ alttaşı üzerinde oluşturulmuş GFET yapıları.

4.4 GFET Yüzeyinin Reseptör Biyomoleküllerin Tutunması için Modifikasyonu

Bu çalışmada seçili antikorlar üzerinden hedef moleküllerin GFET yüzeyine seçimli olarak oryantasyonunu sağlamak için belirli yollar izlenecektir. İlk olarak seçili antikor yapısının grafen yüzeyine immobilize edilmesi sağlanacaktır. Burada dikkat edilmesi gereken kısım, grafen yüzeyi ile antikor arasında köprü görevini üstlenecek bir kimyasal grubun seçilmesidir. Bu amaca yönelik olarak projemizde 1-Pirebütrikasit N-hidroksisüksinimid Ester (PBASE) molekülü kullanılarak GFET yüzeyin modifikasyonu sağlanacaktır. Burada, seçilen kimyasaldaki bir grubun (piren) grafenle π - π etkileşimi üzerinden bağlanması gerçekleştirilecektir.

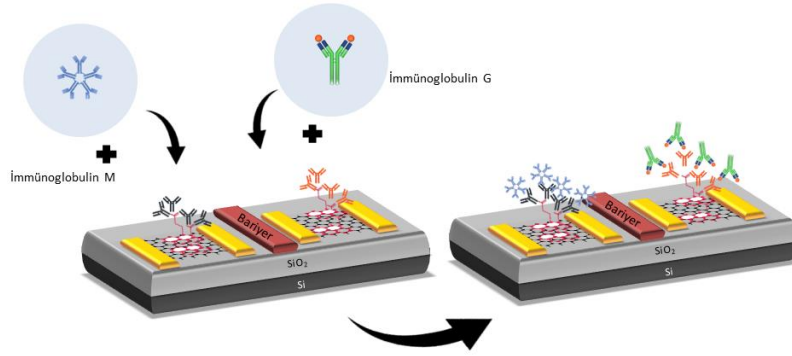
Bu aşamada, GFET oda sıcaklığında 1 saat boyunca Metanol ile hazırlanmış 2 mM'lık PBASE çözeltisine daldırılacak, daha sonra birkaç kez fosfat tampon salin (PBS) ve deiyonize su (DW) ile yıkanarak üzerindeki fazla PBASE moleküllerinden arındırılacaktır (Nicholas 2017), (Şekil 9). GFET yüzeyinin PBASE kullanılarak kimyasal olarak işlevselleştirildiğini doğrulamak için, Raman spektrumu ve X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) teknikleri kullanılacaktır.



Şekil 9: GFET yüzeyinin sırasıyla PBASE ile fonksiyonel hale getirilmesinin şematik gösterimi.

4.5 GFET Yüzeyinin Reseptör Biyomoleküller ile Fonksiyonelleştirilmesi

Son aşamada ise, GFET yüzeyinin monoklonal antikorları ile modifiye edilmesi için, protein yapılarını içeren PBS ortamına daldırılarak oda sıcaklığında 3 saat bekletilecektir. GFET üzerindeki protein yapılarının yoğunluğu hakkında daha iyi bilgi edinmek için, protein yapılarının farklı konsantrasyonlarını içeren (PBS içerisinde 1 fg/mL, 10 fg/mL, 100 fg/mL, 1 pg/mL ve 10 pg/mL) çözelti ortamları hazırlanarak GFET yapıları 37 °C'de ve oda sıcaklığındaki bu çözeltilere daldırılacaktır (Seo vd., 2020). Her iki sıcaklık değeri için farklı sürelerde (1, 2 ve 3 saatlik) tespit edilmek istenen IgM ya da IgG immunoglobulinleri ile inkübasyonu sağlanacaktır (Şekil 10).

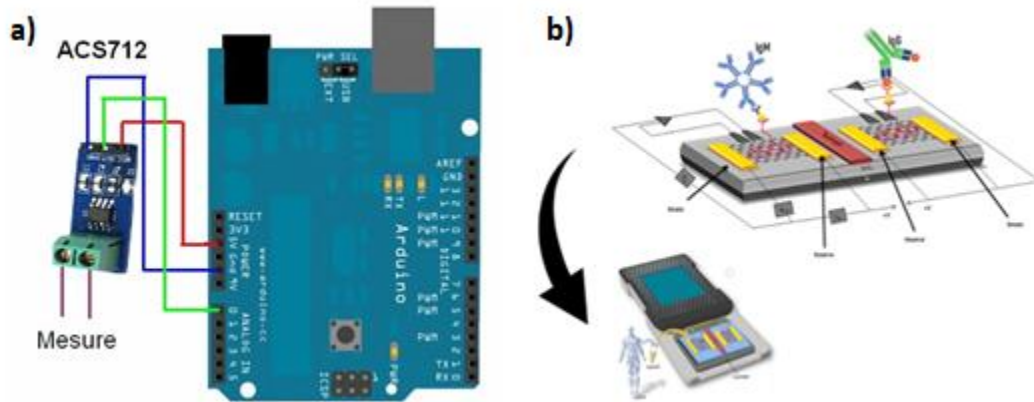


Şekil 10: GFET yüzeyine entegre olmuş antikorların IgM ve IgG ile bağ yapmasının şematik gösterimi.

Bu bilgiler ışığında IgM ve IgG tayini için biyosensörün yüzeyi anti-IgM ve anti-IgG antikorları ile spesifik olarak fonksiyonlaştırılarak, elektriksel olarak yüklü olan IgM ve IgG'nin grafen yüzeyinde immobilize edilen anti-IgM ve anti-IgG ile hibridizasyonu sonucunda elektriksel olarak okunabilen iletkenlik değişimi meydana getirerek hassasiyeti yüksek bir biyosensör tasarımı oluşturulmuş olacaktır.

4.6 Cep Telefonu Üzerinden Veri Okunması:

Tasarladığımız biyosensör platformu, birçok uygulama için arayüz programı olarak kullanılabilme özelliğine sahip Arduino mikroişlemcisi ile cep telefonuna entegre edilecektir. Biyosensör platformuna hedef proteinin bağlanmasına spesifik olarak oluşacak potansiyel farkın oluşturacağı akım değişiminin tespit edilmesi için Arduino mikroişlemcisine uygun yardımcı ekipmanlar kullanılacaktır. Standart bir Arduino mikroişlemcisi ve ACS712 Akım Sensörü olarak adlandırılan akım sensörü kullanılarak biyosensör platformundan sinyal alınması hedeflenmektedir. Şekil 11a'da akım sensörü ve arduino bağlantısı şematik olarak gösterilmiştir. Yine Arduino'nun sahip olduğu micro-usb girişine sahip yardımcı ekipmanlar ve Android Programlama dilleri kullanılarak hazırlanan ekibimize özgün yazılım ile cep telefonlarına entegre edilecek bir sistem hazırlanacaktır.



Şekil 11: a) Arduino mikroişlemcisi ve ACS712 akım sensörünün şematik gösterimi. b) Biyosensör platformunun akıllı sistemlere entegrasyonunun şematik gösterimi.

5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

1. Günümüzde birçok hastalığın erken safhadaki tespiti için halihazırda kullanılmakta olan ölçüm sistemlerine alternatif olarak bir biyosensör sistemi geliştirilmesi planlanmaktadır. Tasarlanan bu biyosensör sisteminin akıllı sistemlere (cep telefonları vb.) entegrasyonu ile mevcut moleküler tanıların spesifik reseptör proteinler ile entegrasyonu sayesinde sınırlarını genişleterek, kişiselleştirilmiş tıbbi sistemlerin gündelik hayatta kullanımı arttırılacaktır. Bu sayede test sonuçları uzman gerektirmeden, pratik bir şekilde yorumlanabilecektir. Ayrıca hastane iş yükü ve maddi kayıpların da azalacağı öngörülmektedir.

2. Grafen iki boyutlu yapısı nedeniyle drain-source kanalında oluşturduğu küçük akım değişimi ile tasarlanan platformun basit bir elektronik okuma sistemi ile eş zamanlı tayinini sağlayacaktır. Bu sayede biyosensörümüz sadece enfeksiyonun tespitini değil, aynı zamanda hastalığın ilerleme seviyesinin tespitini de hızlı bir şekilde belirlemiş ve hastaların evde ya da hastane ortamında tedavi görmesi gerektiğine sağlık çalışanlarının daha etkili bir yöntemle karar vermesinin yolu açılacaktır.
3. Çalışmamızda özellikle antikor temelli bir biyosensör tasarlanmıştır. Böylece oluşabilecek farklı pandemilere karşı hızlıca modifiye edilebilecek bir sistem hedeflenmektedir. Örneğin hedef molekülün farklı bir enfeksiyon ajanı olması durumunda, platforma hızlıca entegre edilip, bu yeni enfeksiyon ajanına karşı geliştirilmiş spesifik antikorlar kullanılabilir. Çalışmamızı bu açılardan özgün ve ortaya çıkaracağı ürünün de muadillerine karşı daha etkili ve sürekliliğinin olacağını öngörmekteyiz. Kolay modifiye edilmesi ve hızla kullanıma sunulabilmesi ile oldukça yüksek bir ticarileşme potansiyeli bulunmaktadır.
4. Tasarladığımız GFET biyosensörü, bağlanmayı belirlemek için hassas akım ve/veya gerilim ölçümüne (voltaj) dayanarak yüzey modifikasyonları ile birleştirildiğinde biyomoleküllerin tespitinde etiketsiz/doğrudan ve ayarlanabilir elektriksel özellikler sergileyebileceği öngörülmektedir. Bu özellikleriyle az enerji ve küçük ölçekte çalışma kolaylığı sayesinde yerinde teşhis gibi uygulamalarda umut verici olacaktır.

6. Uygulanabilirlik

Proje önerimizde immunoglobulin yapılarının FET yüzeyine modifikasyonu için, öncelikle FET yapısındaki source-drain kanalı arasına, 2 boyutlu tek katmanlı grafen yapısı kaplanarak, FET yapısı GFET haline getirilecektir. Ekibimiz tarafından üretilen grafen, metal katalistin kimyasal dağlanması ile bir sonraki işlemler için SiO_2 alttaş yüzeylere transfer edilebilmektedir.

Grafenin transistör yüzeyinde kullanılması, source-drain kanalında meydana gelecek akım değişimlerine hızlı ve doğru bir biçimde yanıt verecek bir biyosensör platform oluşturmasının yanısıra, biyoreseptörlerin biyosensör yüzeyindeki antikorlarla etkileşimi sonucu meydana gelecek olan elektriksel akım değişimlerinin oldukça düşük seviyelerde (pA, nA, μA) olması nedeniyle akım değişimlerinin algılanabilmesi için biyosensör platformunun hassasiyetini arttıracak bir faktör oluşturacaktır. Ayrıca, grafenin bu platformda kullanılmasının diğer bir nedeni ise bağlayıcı bir polimer malzeme ile (piren grubu) seçili antikor yapısının biyosensör yüzeyine immobilize edilmesini sağlamasıdır. Bunun için piren grubu PBASE molekülü kullanılarak, grafen yüzeyi ile antikorlar arasında bir köprü oluşturulacaktır. Literatürde, PBASE molekülü ile grafenin fonksiyonelleştirilmesi üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Fonksiyonelleştirilen GFET yüzeyi anti-IgM ve anti-IgG ile modifiye edilerek IgM ve IgG antikorlarının tespiti için platform hazır hale getirilecektir. Her aşamada moleküllerin miktarları değiştirilerek LOD (Limid of Detection) miktarı belirlenecektir. Bu sayede en az miktarda örnekten IgM ve IgG miktarları tayin edilmesi sağlanacaktır. Proje önerisinde tasarladığımız platform, eş zamanlı olarak hem anti-IgM hem de anti-IgG antikorları ile kaplanacak olan dual yapıya sahip olacaktır.

Böylelikle biyosensör yüzeyindeki GFET yapılarının farklı antikor modifikasyonları ile eş zamanlı hem hastalığın tespiti hem de hastalık derecesinin belirlenmesi hızlı ve etkili bir şekilde gerçekleştirilecektir. Virüs, bakteri gibi hastalık ajanlarının yanı sıra vücut içerisindeki spesifik analizler için geliştirilecek olan GFET biyosensör platformların elektronik okuma sistemlerine entegrasyonu ile yakın gelecekte uzmanlık gerektirmeyen, hızlı ve düşük maliyetli biyosensörler olacaktır. **Böylece teknoloji çağının gereği insan sağlığının hastalıklara karşı korunmasının en önemli ilkesi olan tedaviden önce teşhisin hızlı bir şekilde yapılmasının yanında herhangi bir pandemi durumunda da hazırlıklı olunmasının önü açılacaktır.** Ayrıca kullanılacak olan antikorlar (anti-IgG, anti-IgM), moleküle özgü olup farklı bir moleküle etkileşmemektedir. Bu durum da sensörün spesifitesini güçlendirecektir.

Literatür özetinde kısmi olarak anlatıldığı gibi, GFET tabanlı biyosensör çalışmaları farklı gruplar tarafından birçok farklı analitlerin tesbiti için çalışılmış ve tanımlanmıştır. Sonuçlara

bakıldığında gelecekte hastalıkların teşhisi için kullanılacak en iyi aygıtlar olarak belirtilmiştir. Yine yukarıda anlatıldığı gibi ticari olarak üretilip satışına da başlanmıştır. Projemizin en önemli özgün tarafı, bu tür biyosensörlerin kişisel hastalık teşhis ve takibi için cep telefonları gibi taşınabilir akıllı sistemlere entegre edilmesiyle gelecekte amaçlanan tele-tıp uygulaması adına bir başlangıç noktası olmasıdır.

Projemizde gerçekleştireceğimiz biyosensör için THS-2'den yola çıkılmıştır, teori ve bilimsel prensipler göz önünde bulundurularak Teknofest 2021 Biyoteknoloji İnovasyon Proje Kategorisi final aşamasında ürün prototipi THS-4 aşamasında sergilenmesi amaçlanmıştır. Yarışma sonunda TÜBİTAK BİGG (Bireysel Genç Girişim) Programına başvurarak, sermaye desteği ve mevcut teknolojiler ile ürünümüzü ticarileştirmeyi amaçlamaktayız.

7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

Pandemi süreci ile birlikte hızlı tespit kitlerinin önemi giderek artması sebebiyle bu alanda yapılan bilimsel araştırmalar da hız kazanmıştır. Ancak bu çalışmalar çoğu ülkemizde henüz Ar-Ge aşamasındadır. Dolayısıyla hızlı tespit kitlerinin ülkemizde üretimi hem ekonomimiz hem de toplum sağlığı adına oldukça önemlidir. Biyosensör platformumuzun temelini oluşturan litografik çalışmalar üzerine ülkemizde halihazırda üretim yapan bir firma bulunmamaktadır. Grafen üretimi ve satışının yapıldığı yerli bir firmanın 2 inç ölçülü Si/SiO₂ üzerinde CVD grafen satış fiyatı ise 245 Euro civarındadır. Bu fiyatlar grafenin inç ölçüsüne göre değişiklik göstermektedir. Yurt dışı temelli bir firma ise grafen FET çip şeklinde iki problu FET cihazının satış fiyatını 445 Euro olarak belirlemiştir. Ayrıca aynı firma 1 cm² Si/SiO₂ üzerinde CVD grafeni de 471 Euro olarak satışa sunmaktadır. Bu kapsamda çalışmalarımızın İş-Zaman Çizelgesi (Tablo-1), yapılacak olan deneysel çalışmalar ile birlikte hesaplanan Dönemsel Harcama Planı (Tablo-2) ve üretim parametrelerine bağlı olarak materyal analizleri ise Dönemsel Analiz Planında (Tablo-3) bulunmaktadır.

Tablo 1: Proje İş-Zaman Çizelgesi

IP No	İş Paketi Adı ve İçeriği	Görevli Takım Uyesi	Zaman					
			Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül
1	Grafen Sentezi ve Litografi İşlemleri <ul style="list-style-type: none"> Kimyasal Buhar Biriktirme (CVD) Yöntemi ile Grafen Üretimi ve Karakterizasyonu Fotolitografi yöntemiyle Au/Cr elektrotların büyütülmesi Üretimi gerçekleştirilen grafenin, tasarlanan SiO₂ substratlar üzerine transfer edilerek grafen kaplı SiO₂ elektrotların hazırlanması ve karakterizasyonu 	Sinem Karatekin Çiğdem Yener Hatice Dilay Yazıcı						
2	Grafen Yüzey Fonksiyonelleştirilmesi <ul style="list-style-type: none"> GFET yüzeyine reseptör biyomoleküllerin tutunması için PBASE molekülü ile fonksiyonelleştirilmesi ve yüzeyin incelenmesi 							
3	Grafen Yüzeyin Reseptör Proteinler ile Biyofonksiyonelleştirilmesi <ul style="list-style-type: none"> Grafen kaplı elektrotlara Anti-IgG ve Anti-IgM antikor yapılarının entegrasyonu ve protein yapılarının GFET yüzeyine tutunmasının sağlanması 	Hatice Nur Koyun Elif Gökoğlan Aleyna Akçay						
4	Biyosensör Sisteminin Oluşturulması ve Ölçümlerinin Alınması <ul style="list-style-type: none"> Hazırlanan biyosensör platformlarının elektriksel karakterizasyonu ve biyosensör özelliklerinin incelenmesi Alınan ölçüm verilerinin akıllı sistemlere entegrasyonu 							

Tablo 2: Dönemsel Harcama Planı

İP No	Malzeme Adı	Kullanım Gerekçesi	Tutar		
			Miktar	Marka	Fiyat
1	Cu Folyo	Grafen sentez ve transfer çalışmaları için	20*100cm	Alfa Aesar	101 Euro
	Aseton		500 mL	Sigma Aldrich	25.30 Euro
	İzopropanol		1 L	Sigma Aldrich	97.90 Euro
	Asetik asit		1 L	Sigma Aldrich	60.90 Euro
	CH ₄ Gazı		1.76 m3	Ege Gaz	1.800 TL
	H ₂ Gazı		6.61 m3	Ege Gaz	950 TL
	Ar Gazı		10.54 m3	Ege Gaz	700 TL
	PMMA (Polimetil metakrilat)		25 g	Sigma Aldrich	60.00 Euro
	Fe(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O		50g	Sigma Aldrich	226.00 Euro
	HCl		500 mL	Sigma Aldrich	87.60 Euro
	Si/SiO ₂ substrat	Litografi çalışmaları için	5*2"	Nanografi	175 Euro
	Au Elementi		500 mg	Sigma Aldrich	154 Euro
	Cr elementi		100 g	Sigma Aldrich	41.30 Euro
	S1813 Pozitif Fotorezist		100 g	Sigma Aldrich	24.80 Euro
2	PBASE	Grafen yüzey fonksiyonelleştirilmesi için	1 g	Prizma	4.410,00 TL
3	BSA (Blocking Buffer)	Grafen yüzey biyofonksiyonelleştirilmesi için	10 g	Prizma	937,00 TL
	Anti-IgM Monoklonal Antikor		1 mg	Prizma	4.294,50 TL
	Anti-IgG Monoklonal Antikor		1 mg	Prizma	2.079,00 TL
4	PBS	Biyosensör ölçümleri ve akıllı sistemlere entegrasyonu için	100 Tablet	Prizma	2.402,00 TL
	Deiyonize su		1 L	Sigma Aldrich	18.40 TL
	IgM Monoklonal Antijen		2 mg	Prizma	6.552,00 TL
	IgG Monoklonal Antijen		25 mg	Prizma	2.887,50 TL
	Arduino Mikroişlemcisi ve Ekipmanları		1 adet	Robotistan	200 TL
	ACS712 Akım Sensörü		1 adet	Robotistan	20 TL
TOPLAM= 1.053,8 Euro + 24.848,4 TL					

Tablo 3: Dönemsel Analiz Planı

İP No	Analiz Adı	Analiz Hizmeti Alınacak Laboratuvar	Analiz Miktarı (Saat)	Analiz Gerekçesi	Tutar (TL)
1	Raman Spektroskopisi-Raman Mapping	ÇUMERLAB-Çukurova Üniversitesi	2	Grafen yüzey karakterizasyonu ve Litografi işlemi sonrası kanal aralıklarının incelenmesi	550
	SEM Analizi	PAU-ILTAM-Pamkkale Üniversitesi	1	Grafen yüzey karakterizasyonu ve Litografi işlemi sonrası kanal aralıklarının incelenmesi	250
	AFM	ÇUMERLAB-Çukurova Üniversitesi	1	Grafen yüzey karakterizasyonu	140
2	XPS Analizi	UNAM-Bilkent Üniversitesi	2	Grafen yüzey-PBASE molekulu etkileşiminin doğrulaması	140
	Raman Spektroskopisi	ÇUMERLAB-Çukurova Üniversitesi	1	Grafen yüzey-PBASE molekulu etkileşiminin doğrulaması	135
3	XPS Analizi	UNAM-Bilkent Üniversitesi	4	Grafen yüzeyinin reseptör biyomoleküller ile fonksiyonelleştirilmesinin incelenmesi	280
4	Probe Station I-V Ölçümleri	UNAM-Bilkent Üniversitesi	6	GFET biyosensörün elektriksel karakterizasyonu ve biyosensör özelliklerinin incelenmesi	1800
TOPLAM = 3,195 TL					

8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):

Antikor testleri kişiden alınan kan örneğinde bir antikorun varlığının belirlenmesi için yapılan işlemdir. Antikor testleri, vücudunda bakteri ya da virüs bulunduğu düşünülen kişilere yapılmaktadır. İmmunoglobulin G antikor testi, bulaşıcı hastalığa maruz kalmış kişilerde hastalığın teşhisi, izlenmesi ya da bağışıklık durumunun değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Benzer şekilde hastalara uygulanan İmmunoglobulin M antikor testi ise dolaşım ve lenfatik sistemlerde bulunan bulaşıcı hastalıkların teşhisi ve bağışıklık durumunun belirlenmesi için yapılmaktadır.

Antikor testlerinin en genel amacı belirli bir mikroorganizmaya karşı gelişen bağışıklık durumunu değerlendirmektir. Ayrıca belirli bir enfeksiyonun seyrini izlemek, bulaşıcı bir antijene maruz kalma durumunu değerlendirmek, nakledilen bir organın vücut tarafından reddedilme nedenlerini araştırmak için de kullanılır. Alerji, hepatit, HIV, karaciğer hastalıkları, frengi, lupus, tiroid ya da otoimmün bozukluklardan kaynaklanan problemleri teşhis etmek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır.

Proje önerimizde bu alandaki farklı ve yenilikçi yaklaşımımızla, pratikte halk sağlığı açısından hızlı ve etkili şekilde hem hastalık yapıcı enfeksiyonu hem de enfeksiyonun etki seviyesini belirlemede öncü bir çalışma niteliğinde olması hedeflenmektedir. Bu sayede antikor seviyesi takip edilmesi gereken bireyler için yaşam kalitesinin artırılması amaçlanmaktadır.

9. Riskler

1. Grafen üretimi sırasında kullanılan Cu altlıkların yüzey kusurlarından ve safsızlıktan dolayı grafende kusurların meydana gelmesi ve uzun erişimli karbon (C) bağlarının kırılması

B planı: Grafende bulunan C bağlarının kırılmasından dolayı iletkenliğin olumsuz etkilenmesini önlemek adına birden fazla grafen tabakasının kontrollü bir biçimde oluşturularak yapısal özelliklerinin incelenmesi planlanmaktadır. Bu durumun önüne geçecek diğer bir yöntem ise lamine yöntemiyle ayrı ayrı üretilen tek tabakalı birden fazla grafenin transfer yöntemiyle üst üste biriktirilerek katman sayılarının artırılmasıdır.

2. GFET yüzeyine immobilize edilecek anti-IgM ve anti-IgG moleküllerinin yüzeye istenilen düzeyde tutunmaması.

B planı: İmmobilizasyonun artırılması amacıyla literatürde denenmiş olumlu sonuçlar alınan makaleler referans alınarak, farklı miktarlarda ortam koşullarına özen gösterilerek deneylerin tekrarlanması.

3. Deney cihazlarında oluşabilecek arızalar

B Planı: Analiz cihazlarında oluşabilecek arızalar orta büyüklükte bir risk olarak düşünülebilir. Böylesi bir durumda, gerekli görüldüğü takdirde bu imkânlarla sahip kurumlarla temasa geçilerek onların cihazlarından yararlanma yoluna gidilecektir.

10. Kaynaklar

Bergveld , P. 1970. “Development of an Ion-Sensitive Solid-State Device for Neurophysiological Measurements” IEEE Trans. Biomed. Eng., 70.

Caras S., Janata J. 1980. “Field Effect Transistor Sensitive To Penicillin”, Analytical Chemistry, 52, 1935–1937.

Ehrenstein, M.R. ve Notley, C.A. (2010). The importance of natural IgM: scavenger, protector and regulator, Nat. Rev. Immunol., 10 (11), 778–786.

Geim A.K., Novoselov K.S. 2007. “The rise of graphene”, Nat. Mater., 6(3), 183–191

Güvener, Nihan. Fotolitografi ve Mikrosptlama ile Array Platformlarının Hazırlanması ve Uygulamaları. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, 2011.

Hermanson, G.T. (2013). Introduction to Bioconjugation, 1–125.

<https://nanomedical.com/agile/>-(Şekil-2)

Janata J., S. D. Moss S.D. 1976. “Chemically sensitive field-effect transistors” Biomed. Eng., 6, 241.

Janeway Jr C.A., Travers P., Walport M., et al. 2001. "The Humoral Immune Response", 5th ed. New York: Garland Science.

Kahng, D., Atalla, M. M. 1960. "IRE Solid-State Devices Research Conference", Carnegie Institute of Technology, Pittsburgh.

Lilienfeld J.E. 1930. US Patent 1 745 175.

Lima, J.R.C., Rouquayrol, M.Z., Callado, M.R.M., Guedes, M.I.F. ve Pessoa, C. (2012). Interpretation of the presence of IgM and IgG antibodies in a rapid test for dengue: analysis of dengue antibody prevalence in Fortaleza City in the 20th year of the epidemic, *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 45, 163–167.

Liu, S., Guo, X. 2012. "Carbon nanomaterials field-effect-transistor-based biosensors", *NPG Asia Mater.*, 4 (8), e23.

Marrakchi M., Dzyadevych S., Biloivan O., Martelet C., Temple P., Jaffrezic-Renault N. 2006. "Development of trypsin biosensor based on ion sensitive field-effect transistors for proteins determination" *Materials Science & Engineering, C* 26, 369.

Nicholas G. Welch, Judith A. Scoble and Benjamin W. Muir, Paul J. Pigram, 2017. "Orientation and characterization of immobilized antibodies for improved immunoassays" *Biointerphases* 12(2), 1934-8630.

Novoselov K.S, Jiang D, Schedin F, Booth T.J , Khotkevich V.V , Morozov S.V, Geim A.K. 2005. Two-Dimensional Atomic Crystals. *PNAS*. 10451-10453.

Pumera, M. 2011. "Graphene in biosensing", *Materialstoday*, 14, 308-315.

Racine, R. ve Winslow, G.M. (2009). IgM in microbial infections: taken for granted? *Immunology letters*, 125(2), 79-85.

Ren W, Cheng H.M, 2014. The Global Growth of Graphene. *Nature Nanotechnology*. 726–730.

Sarkar, P. 2000. "One-step separation-free amperometric biosensor for the detection of protein", *Microchem. J.*, 64, 283-290.

Seo G, Lee G, Kim M.J, Baek S.H, Choi M, Ku K.B, Lee C.S, Jun S, Park D, Kim H.G, Kim S.J, Lee J.O, Kim B.T, Park E.C, Kim S.I. 2020. Correction to Rapid Detection of COVID-19 Causative Virus (SARS-CoV-2) in Human Nasopharyngeal Swab Specimens Using Field-Effect Transistor-Based Biosensor. *ACS Nano*. 14, 9, 12257-12258.

Ünlü, Özge. 2019. "Kimyasal Buhar Biriktirme Yöntemi Kullanılarak Grafen Sentezlenmesi ve Yapısal Analizi". Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi.

Ünlü. C.G., 2020." Investigation of physical properties of Fe₂O₃ and graphene-based sandwich-type electrodes for biosensor technology", *J Mater Sci: Mater Electron*, DOI: 10.1007/s10854-020-04637-4

Welch N, Scoble J.A and. Muir B.W, Pigram P.J, 2017. Orientation and Characterization of Immobilized Antibodies for Improved Immunoassays *Biointerphases* 12,2,1934-8630.

Yıldız, Bayram. 2016. "Grafenin Kaymalı Yataklara Uygulanması". Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi.