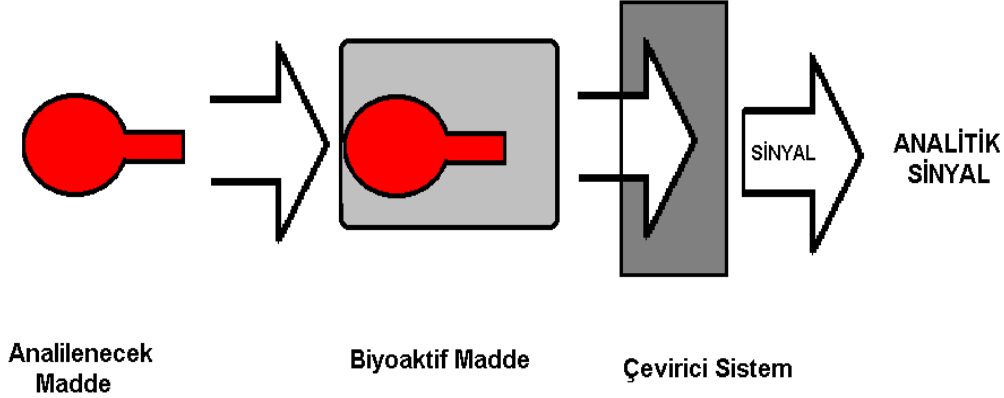


BİYOSENSÖR

Biyosensörler biyolojik tepkimelerde hedef analitleri denetlemek için kullanılan küçük algılayıcı cihazlardır. Birbiri içine geçmiş biri biyokimyasal diğeri elektrokimyasal özellikteki iki çeviriciden oluşmaktadır. Biyokimyasal kısmın görevi analizlenecek maddeyle etkileşerek onu tanımdır. Bu tanıma olayının sonucunda bir biyokimyasal ürün de oluşabilmektedir. Biyosensörün ikinci kısmı olan elektrokimyasal kısım ise bu tanıma olayını okunabilir (ölçülebilir) bir sayısal değere çevirmekle görevlidir (1,2).



Şekil 1: Biyosensörün yapısı.

İdeal bir biyosensörün sahip olması gereken özellikler: (3)

Seçicilik: İdeal bir biyosensörde en önemli parametrelerden birisi seçicilik özelliğidir. Eğer yeterli seçicilik mevcut değilse bu eksiği giderecek uzun ek işlemler gerekir.

Kullanım Ömrü: Biyosensörün kullanım ömrünü kısıtlayan en önemli faktör biyolojik çeviricinin aktivitesindeki azalmadır. Bu durum ayrıca, biyosensörün kalibrasyon sıklığı, stabilite, tekrarlanabilirlik gibi diğer parametrelerini de etkilemektedir.

Kalibrasyon Gereksinmesi: İdeal bir biyosensörün hiç kalibrasyona gerek duymaması ya da en az kalibrasyona gereksinmesi istenir. Fakat bu özellik, teorikte planladığı gibi, pratikte gerçekleştirilememiştir. Kullanım ömürleri boyunca biyosensörler, sıklıkla kalibre edilmelidirler.

Tekrarlanabilirlik: İdeal bir biyosensör için, elektrodun aynı koşullar altında arka arkaya yapılan ölçümlerde hemen hemen aynı sonuçların okunması istenir. Pratikte pek mümkün olmayan bu durum göz önüne alınarak yapılan çalışmalarda tekrarlanabilirlik parametresi mutlaka incelenmelidir. Tekrarlanabilirlik ne kadar iyi olursa biyosensörün uygulamalarının da o denli iyi olduğundan söz edilebilir.

Stabilite: Elektrot stabilitesinin (kararlılığının) yüksek olması ideal biyosensörler için gereklidir. Stabilite, kullanılan biyolojik materyalin fiziksel dayanıklılığına bağlıdır. Ayrıca; pH, ısı, nem, ortam, O₂ derişimi gibi parametrelerden de etkilenmektedir.

Yüksek Duyarlılık: Biyosensöre immobilize edilmiş biyolojik materyalin yalnız belirli maddelere karşı duyarlı olması ideal biyosensörlerin özelliklerindedir.

Yeterli Düzeyde Tayin Sınırı: Tasarlanan bir biyosensörün tayin sınırının belirli bir derişim değerin altında olması gerekmektedir. Belirtilen bu sınır, elektrot yüzeyinin büyüklüğü, biyolojik materyalin tayin edilecek maddeye afinitesi, immobilize edilen madde miktarı gibi faktörlerden etkilenir.

Geniş Ölçüm Aralığı: Biyosensör uygulamalarında ölçüm aralığı olarak adlandırılan bölge biyosensörlerden alınan akım - derişim eğrilerinin lineer olduğu derişim aralığıdır.

Hızlı Cevap Zamanı: Bir biyosensör elektrodunun cevap zamanı elde edilen akım-zaman eğrilerinden anlaşılabilir. Örneğin elde edilen eğride basamakların şekli yayvan ve genişse cevap zamanı uzun (yavaş), tersi söz konusu ise cevap zamanı kısa (hızlı)'dır.

Hızlı Geriye Dönme Zamanı: Geriye dönme zamanı örneğin amperometrik çalışmalarda ilk örnekten ne kadar süre sonra ikinci örneğin ölçülebileceğini belirler. Yani ilk örneğin ilavesinden sonra sabit akım değerleri kısa sürede gözlenebiliyorsa ikinci örnek de aynı süre sonra ilave edilebilecektir.

Basitlik ve Ucuzluk: Tasarımı basit ve ucuz, kullanımı rahat biyosensörler ideal biyosensörlerdir. Bu nedenle ilk biyosensörlerdeki karmaşık ve de pahalı olan yapılar daha sonra basitleştirilmiş ve mümkün olduğunca da maliyeti düşürülmüştür.

Küçültülebilirlik ve Sterilize edilebilirlik: Elektrotlarının sterilize edilebilmesi ve boyutlarının küçültülmesi biyosensör tasarımında önemlidir. Buna karşın, biyosensör yapısına giren biyolojik materyalin fiziksel dayanıklılığı, sterilizasyonu kısıtlayan en önemli parametredir.

DNA BİYOSENSÖRLERİ

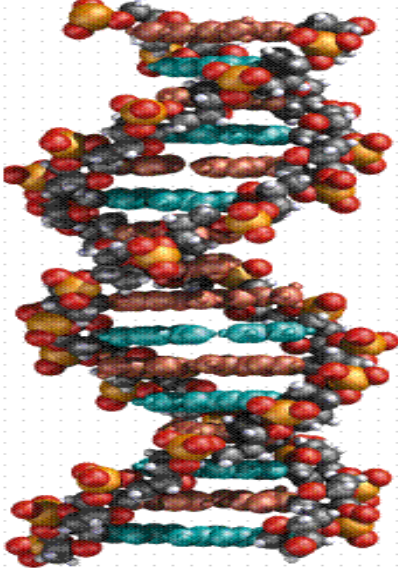
Biyosensör tasarımında kullanılan dizi tanıma yüzeyleri, Analitik Kimya alanında yeni ve ilgi çekicidir (4). Bu tür tanıma yüzeyleri, sahip olduğumuz bilinen elektrokimyasal biyosensörlere yeni boyutlar kazandıracak ve gelecekte hasta başında veya doktor gözetimindeki analizlerde önemli bir rol oynayacaktır (5).

Tanıma yüzeyi olarak DNA'nın kullanıldığı biyosensörlere DNA biyosensörleri adı verilir (6-10). DNA tanıma yüzeyleri, dizisi belli hibridizasyon olaylarının izlenmesinde (11,12) veya bu yüzey ile etkileşime giren analizlenecek maddelerin (karsinojen maddeler, ilaçlar, vb.) tayininde kullanılabilir (13).

Biyosensör tasarımında kullanılan moleküller ve yapıları:

Nükleik Asitler ve DNA : (14,15)

Nükleik asitlerin primer yapısı, belirli tür ve sayıdaki nükleotidlerin belirli bir diziliş sırasına göre 3'-5' fosfodiester bağları ile birbirlerine bağlanarak polinükleotid zinciri oluşturmaları sonucu oluşmaktadır. Molekül içerisindeki nükleotid bağlarını parçalayan nükleaz enzimlerine **endonükleaz**, iki uçtan parçalayanlara ise **ekzonükleaz** adı verilmektedir. DNA (Deoksiribonükleik asit) moleküllerine ait X-ışınları difraksiyon verileri ve Chargaff tarafından DNA molekülünde adenin (A) ve timin (T) miktarları ile guanin (G) ve sitozin (C) miktarlarının eşit olduğu belirlenmiştir. Buna dayanarak Watson, Crick ve Wilkins tarafından 1950 yıllarında DNA yapısı için çift zincirli heliks şeklindeki yapı modeli önerilmiştir. Bazları arasında yer alan hidrojen bağları tarafından çift sarmal DNA molekülünün iki zinciri birarada tutulmaktadır. Çift zincirli sarmalda bazlar sarmal iç kısımda fosfat ve şeker omurgası ise dış kısımda yer aldığı için sarmalın iç kısmı hidrofobik, dış kısmı ise hidrofilik özelliktedir. Pürin ve pirimidin nükleotidleri arasındaki eşleşmeler son derece spesifiktir (A-T ve G-C şeklinde). Bu sayede, DNA yapısında yer alan bir polinükleotid zinciri daima ikinci zincirin tamamlayıcısı olduğundan, bir zincirdeki baz dizisi verildiğinde ikinci zincirdeki baz dizisi bulunabilmektedir. DNA ısıtıldığında, heliks yapısı bozularak ikiye ayrılır. Denatürasyon adı verilen DNA heliks yapısının bozulması 260 nm dalga boyunda absorpsiyon ölçülerek gözlemlenebilmektedir. G ve C arasında üç hidrojen bağı (G≡C) bulunduğundan yüksek derişimde G ve C içeren DNA iki hidrojen bağı taşıyan A ve T (A=T) bulunduran DNA yapısına göre daha yüksek sıcaklıkta denatüre olmaktadır. Uygun şartlar altında çift zincirli DNA tekrar oluşabilir, bu işlem renatürasyon olarak isimlendirilir.



Şekil-2: DNA çift sarmal yapısı

Çift sarmal şeklindeki molekülün bir zinciri 5' → 3' yönüne doğru, diğeri ise 3' → 5' yönüne doğru olduğu için ters yönde paraleldir. Heliks içinde, iki zincirin arasındaki üç boyutlu sistemdeki ilişki, büyük oluk (majör) ve küçük oluk (minör) oluşturmak şeklindedir. Molekülündeki zincirler, çift sarmalın dış yüzeyindedir. Bu zincirlerden her biri kovalent bağlantı sağlayan fosfodiester köprülerinin bulunduğu fosfat ve pentoz gruplarından oluşmuştur. DNA çift sarmalın her iki zinciri, pürin ve pirimidin bazlarının arasındaki hidrojen bağları ile bir arada tutulmaktadır.

Watson ve Crick tarafından 1953 yılında önerilen ilk DNA yapısı, sağa doğru yönelmiş, her dönüşte 10 nükleotidi bulunan ve küçük oluğa mükemmel yerleşen bağlı su ile stabilize olabilen yapıya sahiptir. DNA dehidrate edildiği zaman, yapısal değişikliğe uğrayarak A-DNA adını almaktadır. A-DNA da sağa doğru yöneliktir ve her dönüşünde 11 nükleotid bulunmaktadır. Çift sarmalın çapı, pentoz gruplarının yapılanmasıyla genişlemektedir. Bu durumun bir sonucu olarak DNA'nın boyu kısalmaktadır.

DNA ile ilgili bazı terimlerin tanımlamaları:

DNA baz dizilerinin yazılımı ile ilgili temel bilgiler: (14)

Oligonükleotid: Birden fazla bazın yan yana gelmesiyle oluşur.

Dinükleotidler; İki bazın yanyana gelmesiyle,

Trinükleotidler; üç bazın yanyana gelmesiyle oluşur.

Tekrarlayan oligonükleotidler: Polimer içindeki tekrarlayan oligonükleotidler, tekrarlayan tek bir bazı, tekrarlayan iki bazı ve ya üç bazı ifade eder. Tekrarlayan

mononükleotide poly (A), dinükleotide poly (AT), trinükleotide poly (GAT) örnek verilebilir.

Çift sarmal tekrarlayan polimerler: Nokta ile ayrılarak ifade edilen baz çiftlerinden oluşan ve 5'→3' polaritesine sahip polimerlerdir.

Örneğin mononükleotid gösterilişine, **poly(A).poly(T)** (veya **poly(dA).poly(dT)** şeklinde gösterilebilir), dinükleotid'e **poly(AT).poly(AT)**, trinükleotid'e **poly (GAT).poly (ATC)** örnek verilebilir.

Baz çifti: Birbirinin karşılığı olan iki bazı ifade eder ve gösterilirken nokta ile ayrılır. Örneğin, A.T veya G.C baz çiftleri gibi.

Prob : Baz dizisi belli olan oligonükleotid.

Hedef dizi (Target) : Prob dizisinin karşılığını içeren oligonükleotid.

Yanlış eşleşen dizi (Mismatch) : Bir bazı veya birden fazla bazı hedef diziden farklı olan ve dolayısıyla yanlış eşleşen oligonükleotid.

Rastgele dizi (Non complementary) : Hedef diziden tamamen farklı baz dizilimine sahip dizi içeren oligonükleotid.

İnterkalasyon:

Düzlemsel bir halka sistemine sahip olan bazı maddelerin DNA baz çiftleri arasına yerleşerek, güçlü bir şekilde bağlanması olayıdır (16,17). Maddenin yapısına bağlı olarak, bu etkileşim tersinir ya da tersinmez şekilde gerçekleşmektedir. İnterkalasyon, DNA' da zincir kırılmasına yol açarak ve DNA senteziyle DNA' ya bağımlı RNA sentezini bozmaktadır. Bu maddeler Topoizomeraz (II) enzimini inhibe ederler. İnterkale olabilen bazı ilaçların etki mekanizmaları da bu şekilde açıklanmaktadır.

Nükleik asit (DNA) hibridizasyonu:

Nükleik asit hibridizasyonu, baz çiftlerinin özel hibridizasyon koşullarına bağlı olarak kararlı bir dupleks molekülü oluşturmasıdır (18).

DNA Biyosensörleriyle DNA Dizi Algılama Yöntemleri:

Herhangi bir hastalığı, kalıtsal bir davranışı ya da bakteri ve virüslerinin patojenitesini simgeleyen bir prob DNA dizisinin, bu diziye karşılık gelen hedef diziyle oluşturduğu çift sarmalın biyokimyasal yapısı tanıma olayını mümkün kılmaktadır (7). Bu olayı ölçülebilir fiziksel bir sinyale dönüştüren çeviricinin yüksek duyarlılığı ve hibridizasyonun yüksek seçiciliği elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin çevre

analizlerinde, DNA-ilaç etkileşim tayinlerinde ve bulaşıcı ve kalıtsal hastalıkların tanısında kullanımını gerektirmektedir.

Hibridizasyon tayinlerinde kullanılan çeşitli immünokimyasal ve voltametrik metodlar karşılaştırıldığında birkaç örneğin çalışıldığı durumda voltametrik yöntemlerin daha hızlı yanıt verdiği gözlenir, ancak büyük miktarda bir seri benzer örnek analizlenecekse, iyi bir otomasyona sahip EIA gibi immünokimyasal tekniklerin kullanılması daha uygun olmaktadır (20).

Diziye özgün DNA biyosensörleri, bir çevirim sistemi ile beraber DNA probundan oluşmuştur. DNA biyosensörlerinin esası, DNA bazlarının hibridizasyonuna dayanır (21,22).

Elektrokimyasal DNA biyosensörleri, aranan hedefin baz dizisinin karşılığı olan 20-40 baz gibi kısa bir baz dizimine sahip olan sentetik tek sarmallı DNA (ssDNA) oligomerin (veya "PROB" olarak isimlendirilir), elektrot yüzeyine bağlanmasına dayanmaktadır. Hedefi içeren bir örnek çözeltisine sensörün uygulanması, ile elektrot yüzeyinde hibrit oluşur. Elektrokimyasal ölçümlerde elektrot yüzeyinde oluşan hibrit iki yöntemle tayin edilir; bunlardan ilki bir elektroaktif indikatör aracılığıyla (örneğin bir redoks-aktif katyonik metal kompleksi) yapılan tayindir. Bu yöntemde yüzeyinde hibrit oluşan elektrot indikatörü içeren çözeltiye daldırılır ve indikatörün hibrite bağlanma düzeyi belirlenir (23-28).

Diğer yöntem ise DNA bazlarından en elektroaktif olan Guanin bazının 1.0 V' da verdiği yükseltgenme sinyalinin farklılanmasından yola çıkılarak yapılan tayindir (29-31).

İndikatöre Dayalı DNA Dizi Algılama Yöntemleri:

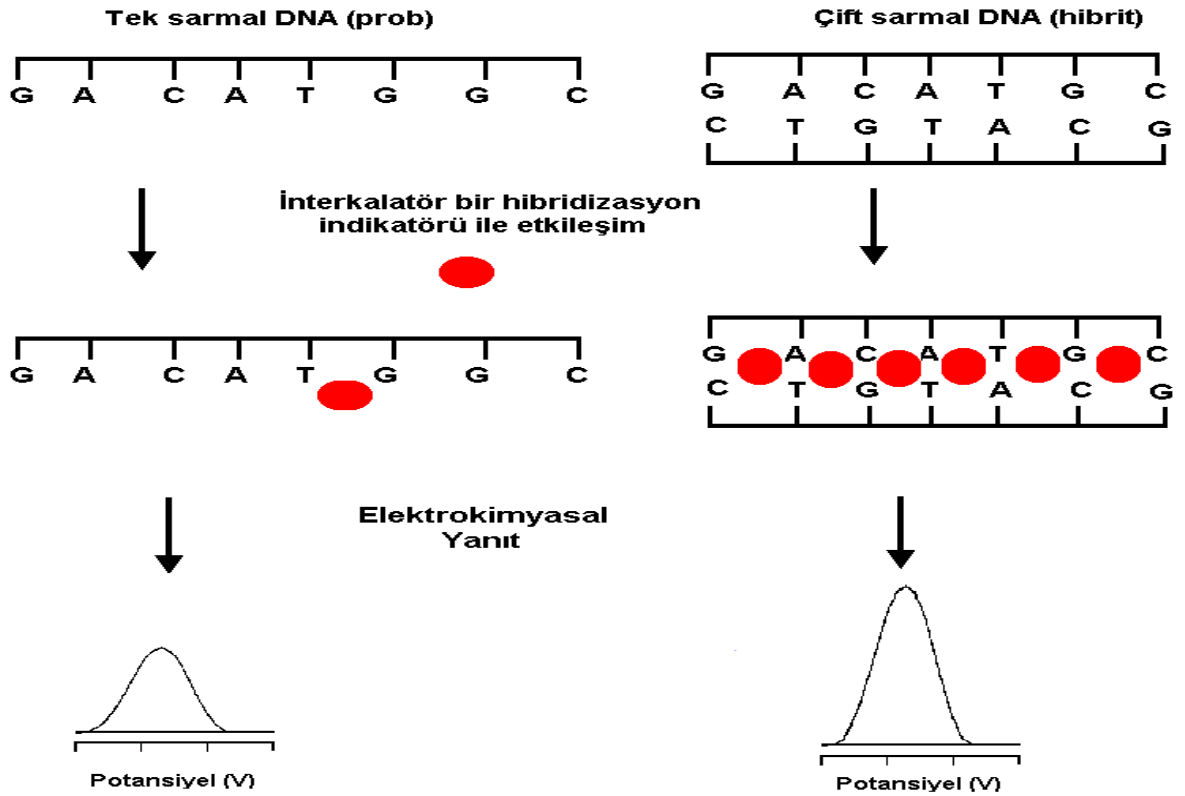
İndikatöre dayalı DNA dizi algılanması, ya DNA'ya interkale olabilen (metal kompleksleri, antibiyotikler) (32-35) veya DNA dizisindeki bazlarla özgün olarak etkileşen (MB, $Ru(bpy)_3^{3+}$, vb.) elektroaktif maddeler (indikatör) ile tayin edilebilmektedir. Elektrokimyasal çeviriciler, hibridizasyon olayını analitik sinyale çevirmede etkin bir şekilde kullanılmaktadır.

Elektrot yüzeyinde oluşan hibrit ile etkileşen indikatörün neden olduğu artan veya azalan elektrokimyasal yanıt hibridizasyonun tayinine yönelik bir sinyal olarak kullanılır.

Elektroaktif bir maddenin indikatör olarak kullanılabilmesi için ssDNA ve dsDNA ile etkileşimi sonucu alınan yanıtlar arasında anlamlı bir fark olması gerekmektedir. Ru(II), Co(III), Os(II), Os(IV)' ün 1,10-fenantrolin ve 2,2'-piridin kelatları hibridizasyon indikatörü olarak sıklıkla kullanılan maddelerdir.

İnterkalatör Madde ile DNA Dizi Algılama Yöntemi:

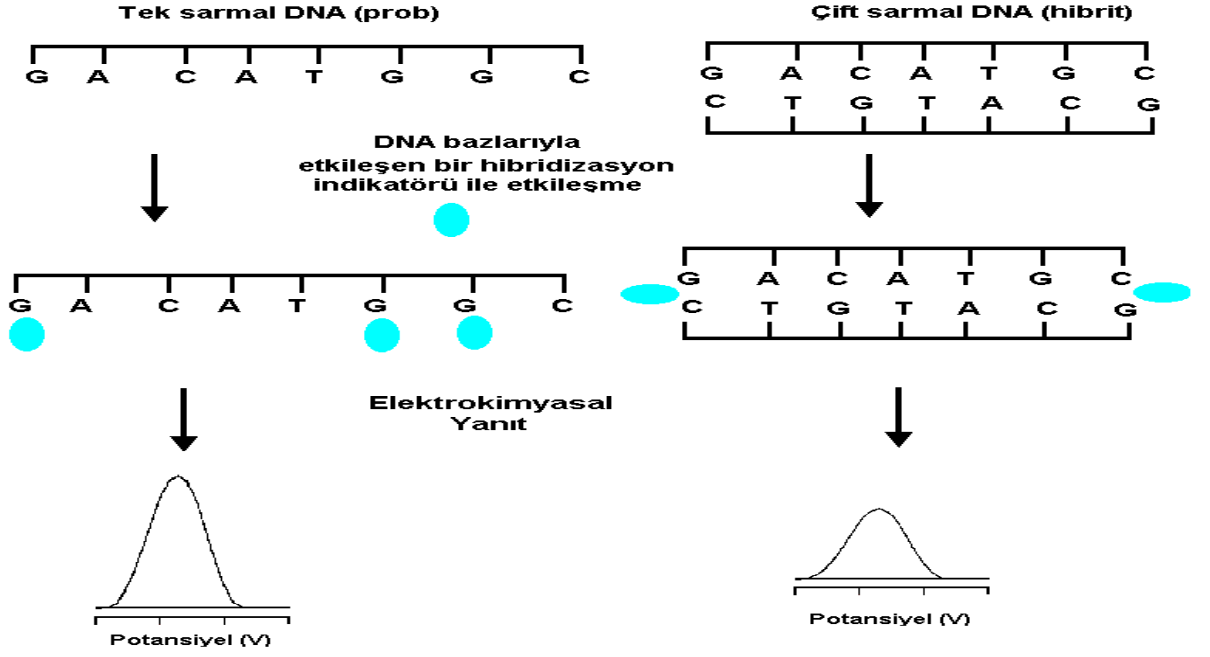
İnterkalasyon; bir maddenin DNA çift sarmalı arasına girip birikmesidir. Bu durumda; Şekil 3' de görüldüğü gibi; çift sarmal DNA (dsDNA) ile etkileşimden sonra alınan madde sinyali maddenin birikmesinden dolayı tek sarmal DNA (ssDNA) ile etkileşimden sonra alınan madde sinyaline göre oldukça yüksektir (36-38).



Şekil 3: İnterkalatör bir hibridizasyon indikatörü ile DNA dizi algılanması

DNA bazlarının en az biriyle etkileşen bir indikatör ile:

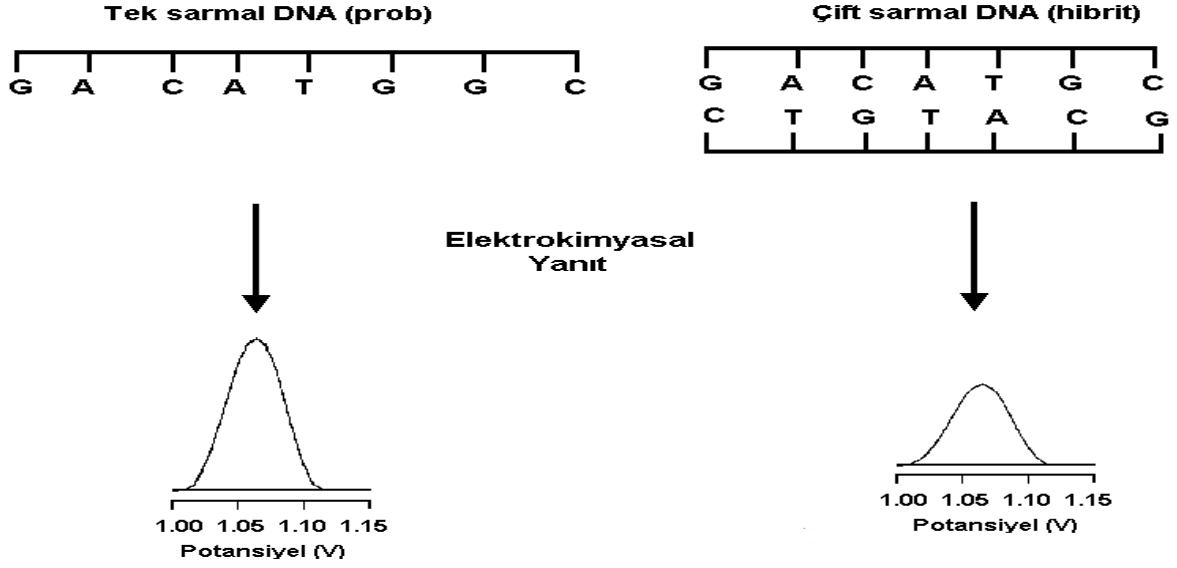
Hibridizasyon indikatörü olarak kullanılan madde DNA'nın bazlarından biriyle (özellikle Guanin) etkileşiyor olabilir. Bu durumda; Şekil 4'de görüldüğü gibi; tek sarmal DNA (ssDNA) 'da bazlar açıkta olduğundan dolayı alınan madde sinyali, hibridizasyondan sonra oluşan çift sarmal DNA (dsDNA) 'da bazlar kapalı olduğundan dolayı alınan madde sinyaline oranla oldukça yüksektir.



Şekil 4: DNA bazlarından biriyle etkileşen bir hibridizasyon indikatörü ile DNA dizi algılanması.

İndikatörsüz DNA Dizi Algılama Yöntemleri:

Elektrot yüzeyine tutturulan tek sarmal prob diziye (ssDNA) ait Guaninlerin verdiği elektrokimyasal yanıt ile, probun komplementeriyle birleşmesinden sonra oluşan çift sarmal DNA'ya ait guaninlerden alınan elektrokimyasal yanıt arasında Şekil 5'de gözlendiği gibi önemli bir farklılık vardır. Bu farklılık hibridizasyonun tayinine yönelik bir sinyal olarak kullanılır (29-31).



Şekil 5: İndikatörsüz DNA dizi algılama yöntemi

DNA Dizi Algılama Yöntemlerinin Kullanım Alanları:

1) Kalıtsal ve Bulaşıcı hastalıkların Tanısında:

Günümüzde çok sayıda kalıtsal hastalığa neden olan mutasyonlar artık tespit edilebilmektedir. Bu konudaki bilgilerimiz insan genom projesi devam ettikçe artmaktadır. Kan, serum, doku, hücre vb. gibi biyolojik materyallerden belirli bir hastalık, mutasyon gibi kalıtsal bir davranışı simgeleyen özgün DNA dizilerinin saptanma çalışmaları, son yıllarda tıp ve diğer bilimlerde önem kazanmış ve bu çalışmalar bakteri, virüs, parazit ve mantar kökenli hastalıklar ve pek çok kalıtsal hastalıklara neden olan mutasyonların saptanmasında kullanılmaya başlanmıştır.

Nükleik asit tanıma yöntemlerine dayanan elektrokimyasal DNA biyosensörleri, kalıtsal ve infeksiyon hastalıklarının tanısında bilinen rutin analiz yöntemlerine göre alternatif olarak daha hızlı, ucuz ve kolay bir yöntemdir.

Elektrokimyasal DNA biyosensörleriyle K. Millan ve arkadaşları tarafından, kistik fibrozis'e ait DNA dizileri kullanılarak bu hastalığın tayini yapılmıştır (39). Bu tekniği kullanarak, J. Wang ve arkadaşları *E. coli*, (40)'e ait DNA dizilerini tayin etmişlerdir. S. Mikkelsen'in 1994 yılında yapmış olduğu, kalıtsal hastalıkların dizi seçici DNA biyosensörleriyle tayin projesi, Amerika Birleşik Devletleri tarafından korumaya alınmıştır (A.B.D. Patent No: 5.312.527-05/17/1994).

Son zamanlarda laboratuvarımızda yaptığımız çalışmalarla, Hepatit B ve TT Virüsüne ait gen dizilerinin, bir hibridizasyon indikatörü yardımıyla tayini gerçek hasta örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (41). Kanın pıhtılaşma faktörlerinden

biri olan Faktör V'e ait gen dizisinin mutasyonuna yönelik laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda herhangi bir hibridizasyon indikatörü kullanmaksızın hastalık tayini gerçekleştirilmiştir (42).

Son yıllarda dünyada Çip Üzerinde Laboratuar Teknolojisi (Laboratory on a Chip) olarak adlandırılan teknik üzerinde önemli çalışmalar yapılmaktadır. Bu yeni teknolojinin amacı; tek bir çipte tüm genomun izlenmesini ve binlerce gen arasındaki etkileşimin aynı zamanda belirlenmesini sağlayabilmektir. Bu teknolojinin esası biyosensörlere dayanmaktadır ve bu çipler küçültülmüş DNA biyosensörleridir.

2) Çevre Sağlığını Tehdit Eden Çeşitli Mikroorganizmaların Tayininde:

Çevre sağlığını tehdit eden özellikle doğal su kaynaklarında vs çeşitli bulaşıcı hastalıklara yol açan mikroorganizmaların tanınması için geliştirilen biyosensörlerinin tasarımı nükleik asit hibridizasyonuna dayalıdır. Elektrokimyasal DNA çiplerinin bir ön tasarımı elektrokimyasal DNA hibridizasyon biyosensörlerinde mevcut olan elektrokimyasal ileticiler, DNA hibridizasyonunu, doğrudan veya DNA interkalatörleri (metal koordinasyon kompleksleri, antibiyotikler vb.) yardımıyla analitik sinyale dönüştürür (13, 23, 25). Mikroorganizmaya ait bilinen bir DNA dizisinin, karşılık gelen hedef dizile bilinmeyen bir DNA örneği içersinde oluşturduğu baz çiftinin biyokimyasal yapısı bu olayı mümkün kılmaktadır. Fiziksel sinyal çeviricilerin yüksek duyarlılığı ve DNA hibridizasyonunun yüksek seçiciliği, elektrokimyasal biyosensörleri çevre analizlerinin vazgeçilmez bir parçası kılmaktadır (29).

Laboratuvarımızda çevre sağlığını tehdit eden sulardaki Cyanobacteria sınıfından Microcystis mikroorganizmalarının tayini gerçekleştirilmiştir. Microcystis ürettiği halka yapıllı heptapeptidlere Mycrocystin adı verilmektedir. Microcystin ile görülen akut zehirlenmelerde insan ve hayvanlarda ölüm ile sonuçlanan ağır karaciğer hasarı meydana gelmektedir (38).

Microcystin tayininde kullanılan yeni elektrokimyasal biyosensör, Microcystis spp. mikroorganizmalarının 16S ribozomal DNA (rDNA)daki baz polimorfizmine dayalı 17 bazlı tek zincirli (ss) oligonükleotit olan probun karbon pastası elektrodu (CPE) yüzeyine tutturulması ile hazırlandı (39). Çalışmamızda hibridizasyon indikatörü olarak kullanılan MB'nin çift sarmal DNA (dsDNA) ve tek sarmal DNA (ssDNA) ile etkileşmesi, elektrokimyasal olarak incelendi ve Microcystin spp. mikroorganizmasına ilişkin oligonükleotitlerin voltametrik tayini gerçekleştirildi. Ayrıca İzmir Kaynaklar Irmağı'ndan ve ilimizde kullanılan çeşme suyundan alınan su

örneklerinde tasarımı yaptıığımız DNA biyosensörü ile Microcystin spp. tayinine yönelik çalışmalar yapıldı.

3) Biyolojik ve Kimyasal Silahların Tayininde

DNA'nın bazı kimyasal maddelerle ve tepkimelerle (ilaç, çevresel atıklar, radyasyon vs..) etkileşmesi ve geliştirilen yeni yöntemlerle bunun incelenmesi ; yeni ilaç tasarımı, çevresel atık analizleri, çeşitli kimyasal ve biyolojik silahların tayinine yönelik yeni yöntem geliştirme açısından önemlidir.

Son yıllarda eşitli ülkelerin biyolojik silah amaçlı kullandığı, genetik olarak modifikasyona uğramış mikroorganizmalar, elektrot yüzeyine tutturulan ve o mikroorganizmayı temsil eden prob dizi ile hibridizasyonu sonucu, modifiye edilmiş ve doğal olarak bulunan mikroorganizmaya ait alınan sinyal farklılaşmasından yola çıkılarak tespit edilebilir (44-45).

Günümüzde kimyasal silah amaçlı kullanılan özellikle organofosfat bileşimine sahip pek çok madde, DNA'ya oldukça önemli hasar vermektedir. Bunları biyosensör teknolojisine dayanarak DNA'ya verdiği hasardan yola çıkarak ya da direkt enzim teknolojisi yöntemleriyle saptamak mümkündür. Bu konuda Simonian ve arkadaşları, organofosfatlı savaş ajanları ve pestisit tayinini optik biyosensöre dayalı olarak (46), Wang ve arkadaşları, nitroaromatik patlayıcılar ve organofosfatlı sinir gazlarının tayinini tek kanal mikroçip sisteminde flow injection yöntemini kullanarak (47), Tusarova ve arkadaşları, organofosfatlı kimyasal savaş ajanlarını asetilkolinesteraz enziminin inhibisyonuna dayanarak (48) yine benzer bir yöntem ile enzimbiyosensörü kullanarak Mionetto ve arkadaşları organik çözeltilerde asetilkolin esterazdan yola çıkarak pestisit tayinini (49) gerçekleştirmişlerdir.

Kaynaklar

- 1) Coulet, P. R., "What is a Biosensor?" Chapter 1; " Biosensor principles and applications", Ed: Blum, L. J., Coulet, P. R., (1991), Marcel Dekker Inc., New York, sayfa 1-6.
- 2) Turner, A. P. F., "Biosensors: Fundamentals and Applications", Ed: Turner, A. P. F., Karube, I. and Wilson, G. S.; Oxford University Press, (1987), Oxford, sayfa 5-7.
- 3) Hall, E.A.H. (1990). Biosensors, Ch.1: Biosensors in context, Open University Press, İngiltere; s.3-30.
- 4) Wang, J., Rivas, Cai, X., Palecek, E., Nielsen, P., Shirashi, H., Dontha, N., Luo, D., Parrado, C., Chicharro, M., farias, P.A.M., Valera, F.S., Grant, D.H., Ozsoz, M., Flair, M.N., (1997), DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring. A Review, *Anal. Chim.Acta* , 347: 1-8.
- 5) Wang, J., Rivas, G., Cai, X., Dontha, N., Shiraishi, H., Luo, D., Valera, F. S. (1997). Sequence-specific electrochemical biosensing of *M. tuberculosis* DNA, *Anal. Chim. Acta*, 337: 41-48.
- 6) McGown, L.B., Joseph, M.J., Pitner, J.B., Vonk, G.P. ve Linn, C.P.(1995). The Nucleic acid ligand: A new tool for molecular recognition, *Anal. Chem.*, 67: 663 A-668 A.
- 7) Mikkelsen S.R. (1996), Electrochemical Biosensor for DNA sequence Detection A Review, *Electroanalysis*, 8(1): 15-19.
- 8) Palecek, E., (1988), New trends in electrochemical analysis of nucleic acids, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 20: 179-194.
- 9) Kerman, K., Meric, B., Ozkan, D., Kara., P., Erdem, A., Ozsoz M., (2001), Electrochemical DNA biosensor for the determination of Benzo[a]pyrene - DNA adducts, *Anal. Chim. Acta.*, 450: 45-52.
- 10) Wang, J., Rivas, G., Fernandes, J.R., Jiang, M., Paz, J.L.L., Waymire, R., Nielsen, T.W., Getts, R.C.(1998). Adsorption and detection of DNA dendrimers at carbon electrodes, *Electroanalysis*, 10(8): 553-556.
- 11) Wang, J., Nielsen, P., Jiang, M., Cai, X., Fernandes, J.R., Grant, D.H., Ozsoz, M., Beglieter, A., Mowat, M.(1997). Mismatch sensitive hybridization detection by peptide nucleic acids immobilized on a quartz crystal microbalance, *Anal. Chem.*, 69: 5200-5202.
- 12) Meric, B., Kerman, K., Ozkan, D., Kara, P., Ozsoz, M., (2002), Indicator-

free DNA biosensor based on adenine and guanine signals, *Electroanalysis*, 14(18): 1245-1250.

13) Brett, A.M. Oliveira, Macedo, T.R.A., Raimundo, D., Marques, M.H., Serrano, S.H.P. (1998). Voltammetric behaviour of mitoxantrone at a DNA-biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 13: 861-867.

14) DNA structure and Function; Chapter 1- Introduction to the Structure, properties, and reactions of DNA; Editör, R. R. Sinden, Academic Press, California, 1994, sayfa 1-57.

15) Temel Biyokimya 2, (1997). B ölüm 8: Bilgi Kaynağı olan Makromoleküller; Editörler, Prof. Dr. Taner Onat, Prof. Dr. Kaya Emerk; Saray Medikal Yayıncılık, 2. Baskı: sayfa 565-567.

16) Erdem, A., Kara, P., Kerman, K., Ozkan, D., Ozsoz, M., (2003), Electrochemical biosensor for the detection of interaction between arsenic trioxide and DNA based on Guanine signal, *Electroanalysis*, 15 (7): 1-7.

17) Barton, J.K., (1986), Metals and DNA: Molecular left-handed complements, *Science*, 233: 727- 734.

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

19) Thayer, A.M. (30 Ağustos 1999). Deciphering Diseases, *Chemical & Engineering News*, Ed. by M. Jacobs, American Chemical Society, North Carolina, 19-28.

20) Palecek, E., (1996), From Polarography of DNA to Microanalysis with Nucleic Acid Modified Electrodes, *Electroanal.*, 8: 7-14.

21) Erdem A., Kerman K., Meriç B., Akarca U.S., Ozsoz M. (2000), Novel hybridization indicator methylene blue for the electrochemical detection of short DNA sequences related to the hepatitis B virus, *Anal. Chim. Acta*, 422: 139-149.

22) Erdem A., Kerman K., Meriç B., Ozsoz, M. (2001). Methylene blue as a novel electrochemical hybridization indicator, *Electroanalysis*, 13: No. 3, 219-223.

23) Erdem A., Meriç B., Kerman K., Dalbastı T., Ozsoz M. (1999), Detection of interaction between metal complex indicator and DNA by using electrochemical biosensor, *Electroanal.*, 11: 1372-1376.

24) Erdem A., Kerman K., Meric B., Ozkan, D., Kara, P., Ozsoz M, (2002), DNA biosensor for microcystis spp. Sequence detection by using methylene blue and

ruthenium complexes as hybridisation labels, Turk. J. Chem. 26: 851-862.

25) Erdem, A, Meric, B., Kerman, K., Dalbasti, T., Ozsoz, M., (1999), Detection of interaction between metal complex indicator and DNA by using electrochemical biosensor, *Electroanalysis*, 11 (18): 1372-1376.

26) Erdem, A., Kara, P., Kerman, K., Ozkan, D., Ozsoz, M., (2003), Electrochemical biosensor for the detection of interaction between arsenic trioxide and DNA based on Guanine signal, *Electroanalysis*, 15 (7): 1-7.

27) Kara, P, Kerman, K., Ozkan, D., Meric, B., Erdem, A., Ozkan, Z., Ozsoz, M., (2002), Electrochemical genosensor for the detection of interaction between methylene blue and DNA , *Electrochemistry Communications*, 4: 705-709.

28) Kara, P, Ozkan, D., Kerman, K., Meric, B, Erdem, A., Ozsoz, M., (2002), DNA sensing on glassy carbon electrodes by using hemin as electrochemical hybridization label, *Anal. Bioanal. Chem.*, 373: 710-716.

29) Wang, J., Kawde, A.N., (2002), Amplified label-free electrical detection of DNA hybridisation, *Analyst.*, 127(3):383-386.

30) Meric, B., Kerman, K., Ozkan, D., Kara, P., Ozsoz, M., (2002), Indicator-free DNA biosensor based on adenine and guanine signals, *Electroanalysis*, 14(18): 1245-1250.

31) Kara, P., Ozkan, D., Erdem, A., Kerman, K., Pehlivan, S., Ozkinay, F., Unuvar, D., Itirli G., and Ozsoz, M., (2003), Detection of achondroplasia G380R mutation from PCR amplicons by using inosine modified carbon electrodes based on electrochemical DNA chip technology, *Clinica Chimica Acta*, 336(1-2): 57-64.

32) Kerman, K., Meric, B., Ozkan, D., Kara., P., Erdem, A., Ozsoz M., (2001), Electrochemical DNA biosensor for the determination of Benzo[a]pyrene - DNA adducts, *Anal. Chim. Acta.*, 450: 45-52.

33) Kara, P, Ozkan, D., Kerman, K., Meric, B, Erdem, A., Ozsoz, M., (2002), DNA sensing on glassy carbon electrodes by using hemin as electrochemical hybridisation label, *Anal. Bioanal. Chem.*, 373: 710-716.

34) Erdem A, Meriç B., Kerman K., Dalbastı T., Ozsoz M. (1999), Detection of interaction between metal complex indicator and DNA by using electrochemical biosensor, *Electroanal.*, 11: 1372-1376.

35) Erdem A., Kerman K., Meriç B., Ozsoz, M. (2001). Methylene blue as a novel electrochemical hybridization indicator, *Electroanalysis*, 13: No. 3, 219-223.

36) Takeuchi, K.J., Thompson, M.S., Pipes, D.W., Meyer, T. J. (1984).

Redox and spectral properties of monooxo polypyridyl complexes of ruthenium and osmium in Aqueous media, *Inorg. Chem.*, 23: 1845-1851.

37) Wang, J., Ozsoz, M., Cai, X., Rivas, G., Shiraishi, H., Grant, D.H., Chicarro, M., Fernandes, J. R. and Palecek, E.(1998). Interactions of antitumor drug daunomycin with DNA in solution and at the surface, *Bioelectrochem. and Bioenerg.*, 45: 33 – 40.

38) Carmichael, W. W., *In Marine Toxins and Venoms, Handbook of Natural Toxins* (Ed: A. T. Tu), Dekker, New York, 1988, Vol. 3, pp. 121-147.

39) Millan, K.M., Saraullo, A., Mikkelsen, S.R., (1994), Voltammetric DNA Biosensor for cystic fibrosis based on a modified carbon paste electrode, *Anal. Chem.*, 66: 2943-2948.

40) Wang, J., Rivas, G., Cai, X. (1997). Screen-printed electrochemical hybridization biosensor for the detection of DNA sequences from the Escherichia coli pathogen, *Electroanalysis*, 9(5): 395-398.

41) Meric, B., Kerman, K., Ozkan, D., Kara, P., Erensoy, S., Akarca, U.S., Mascini, M., Ozsoz, M., (2002), Electrochemical DNA biosensor for the detection of TT and Hepatitis B virus from PCR amplified real samples by using methylene blue, *Talanta*, 56 (5): 939-947.

42) Ozkan, D., Erdem, A., Kara, P., Kerman, K., Meric, B., Hassmann, J., Ozsoz, M., (2002), Allele spesific genotype detection of FactorV Leiden mutation, from polymerase chain reaction amplicons based on label free electrochemical genosensor, *Analytical Chemistry*, 74: 5931-5936.

43) Erdem A., Kerman K., Meric B., Ozkan, D., Kara, P., Ozsoz M, (2002), DNA biosensor for microcystis spp. Sequence detection by using methylene blue and ruthenium complexes as hybridisation labels, *Turk. J. Chem.* 26: 851-862.

44) Mariotti, E., Minunni, M., Macsini, M., (2002), Surface plasmon resonance biosensor for genetically modified organisms detection, *Anal. Chim. Acta*, 453(2): 165-172.

45) Meric, B., Kerman, K., Maraza, G., Palchetti, I., Macsini, M., Ozsoz, M.,

(2004), Disposable genosensor, a new tool for the detection of NOS-terminator, a genetic element present in GMOs, *Food Control*, 15(8): 621-626.

46) Simonian A.L, Good T.A., Wang S.S., Wild J.R., (2004), Nanoparticle based optical biosensor for the direct detection of organophosphate chemical warfare agents and pesticides, *Anal. Chim. Acta* article in press.

47) Wang J., Pumera M., Chatrathi M.P., Escarpa A., Musameh M., (2002), Single channel microchip for fast screening and detailed of nitroaromatic explosives or organophosphate nerve agents, *Anal. Chem.*, 74: 1187-1191.

48) Tusarova I., Halamek E., Koblíha Zbynek, (1999), Study on reactivation of enzyme inhibitor complexes by oximes using acetylcholine esterase inhibited by organophosphate chemical warfare agents, *Enzyme and Microbial Technology*, 25:400-403.

49) Mionetto N., Marty L., Karube I. (1994), Acetylcholine esterase in organic solvents for the detection of pesticides: Biosensor applications, *Biosensors & Bioelectronics*, 9:463-470.