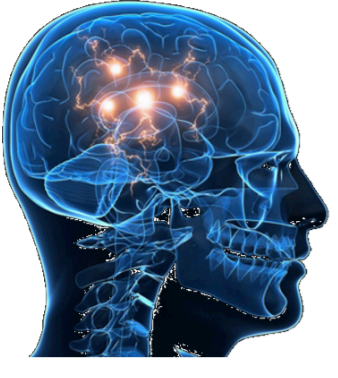


Nörodejeneratif Hastalıkların Erken Teşhisi İçin Elektrokimyasal Biyosensör Sistemleri

Mustafa Kemal SEZGİNTÜRK*, Münteha Nur SONUÇ KARABOĞA**, Burçak Demirbakan*, Burcu ÖZCAN*

*Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

** Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik

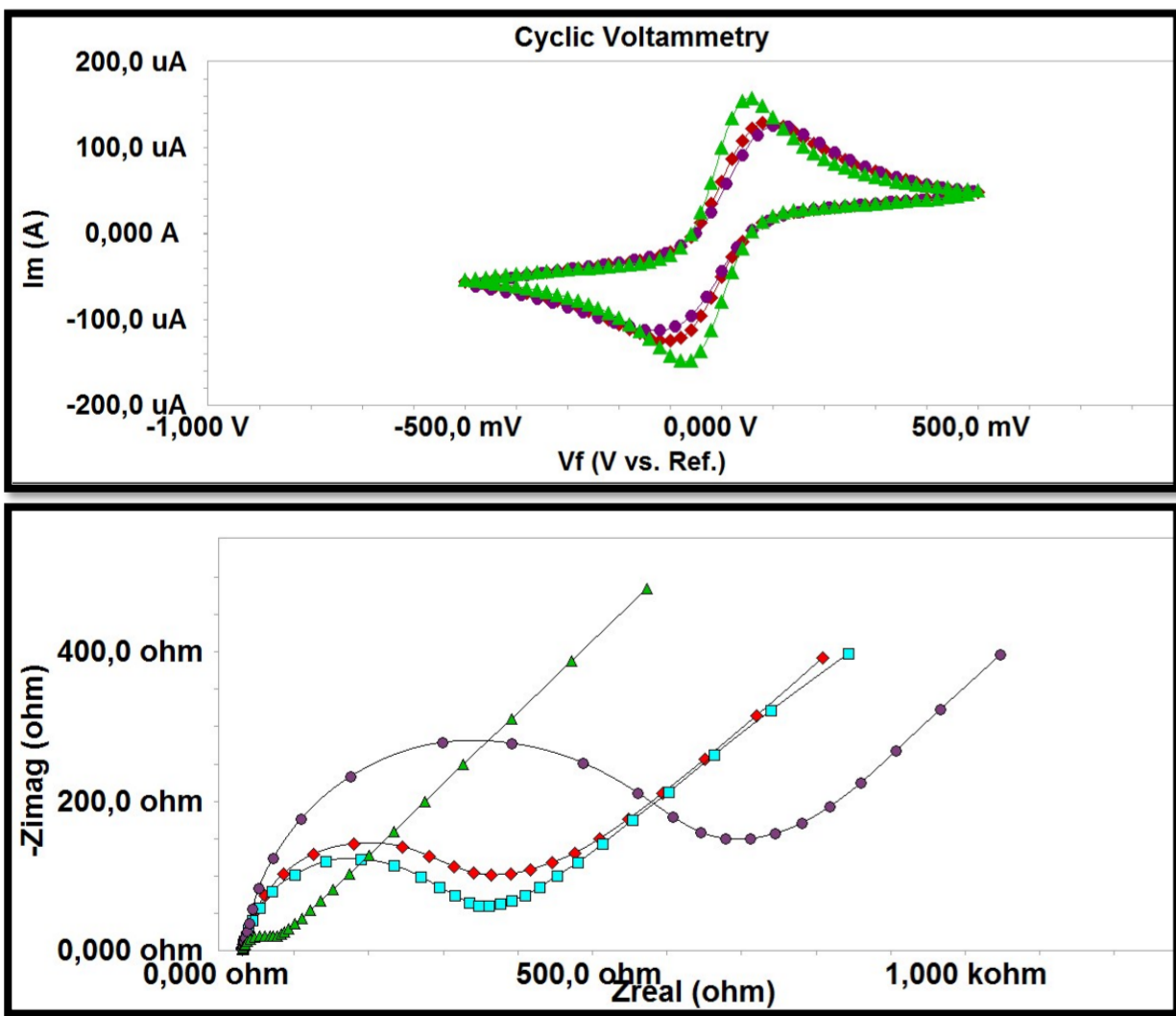


ÖZET

Gelişmiş sanayi toplumlarında yaşam sürecinin uzaması yeni sorunları da beraberinde getirmektedir. İnflamasyon, ilerleyen yaş ile birlikte görülen ölüm oranı en yüksek hastalıklar olan Alzheimer, Parkinson, Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların etiyolojisinde bulunmaktadır. Tümör nekroz faktör pek çok hücre tarafından salgılanan glikoprotein yapısında bir sitokindir. Yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarda doğal immünite koruyuculuğunun azalmasından ötürü TNF alfa düzeyinin arttığı bilinmektedir. Bu noktadan yola çıkarak, bu çalışmada TNF alfa'nın erken tanısına yönelik tek kullanımlık screen printed elektrotlarla yeni ve hassas bir biyosensör sistemi geliştirilmiştir. Altın kaplı yüzeyde kendi kendine oluşan tek tabakalar (SAMs) için sisteamin kullanılmış ve anti-TNF alfa yüzeye kovalent etkileşimle immobilize edilmiştir. Tüm bu adımlar döngüsel voltametri (CV) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) ile takip edilmiştir. En uygun Anti TNF alfa konsantrasyonu optimizasyon adımında belirlenmiştir ve optimize edilen değerle çalışmaya devam edilmiştir. Biyosensör geliştirildikten sonra TNF alfa ölçümleri gerçek serum ortamında taşınabilir cihaz yardımıyla kolay ve hızlı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

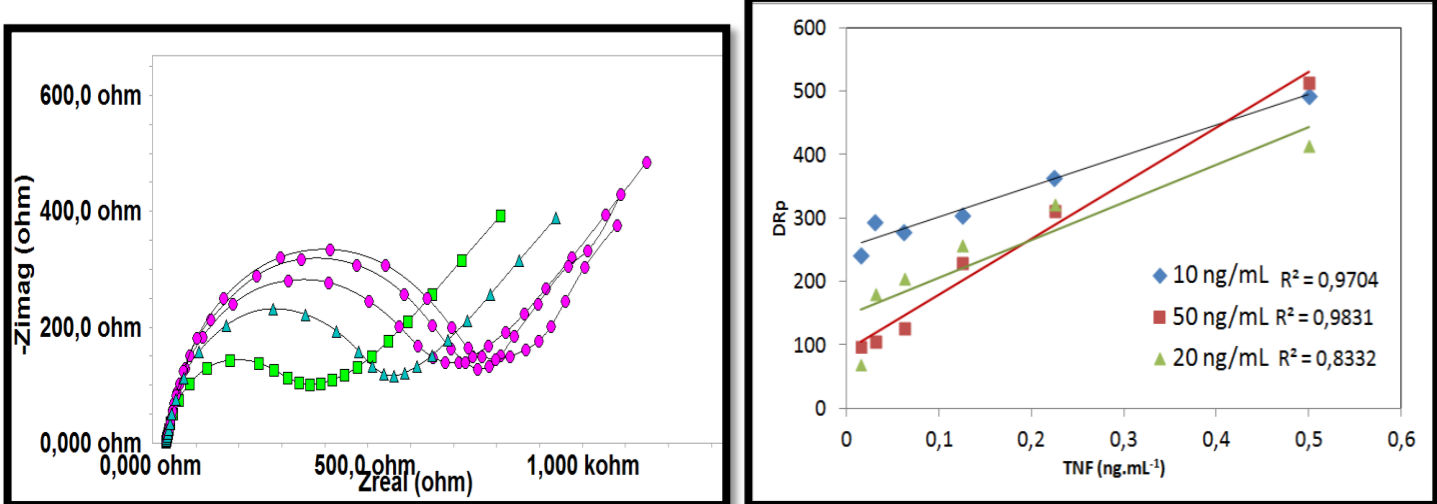
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

TNF α 'nın tayinine yönelik geliştirilen kullan-at taşınabilir biyosensör sisteminin tasarımının ilk adımı anti TNF α 'nın immobilizasyonudur. Antikorun immobilizasyonu için 50 mM sisteamin SAMs ajanı olarak kullanıldı. Bileşikteki Tiyol grupları altın yüzey ile kuvvetli S-S bağ yaparken, amino grupları glutaraldehit çapraz bağlayıcı ajan yardımıyla anti-TNF α 'nın yüzeye kovalent immobilizasyonunu sağlar.

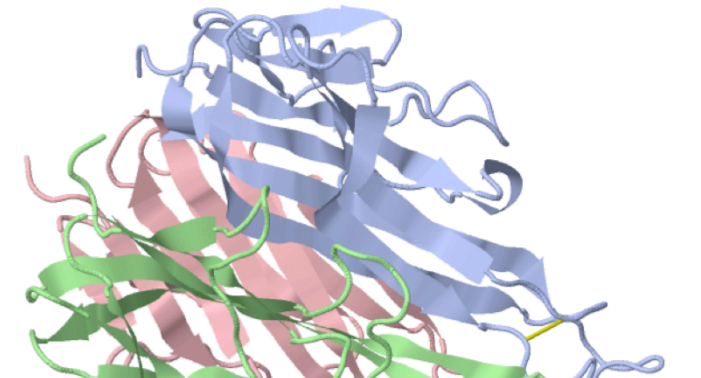


Optimizasyon Basamağı

anti-TNF α 'nın konsantrasyon optimizasyonu belirlemek adına 3 farklı anti-TNF α konsantrasyonunda biyosensörler dizayn edilmiş ve biyosensörlerin TNF α 'ya verdikleri yanıt EIS spektrumuyla takip edilmiştir. EIS spektrumlarından elde edilen yük transfer direnci farkları yardımıyla da kalibrasyon grafiği çizilmiştir



GİRİŞ



Biyosensörler, fizikokimyasal transduser ile bütünleştirilmiş ya da alakalandırılmış moleküler tanımlama cihazıdır. Bu cihazlar point-of-care olarak sınıflandırılabilirler ve bu şekilde evde ya da klinikte kullanılabilme imkânına sahiptirler. Uygun bir biyosensör tasarlarken cihazın spesifikliğini belli bir markere olan hassaslığı belirlemektedir. Biyosensörler, kolay kullanım, ucuzluk ve çabuk sonuç verme gibi avantajlar sağlamaktadırlar.

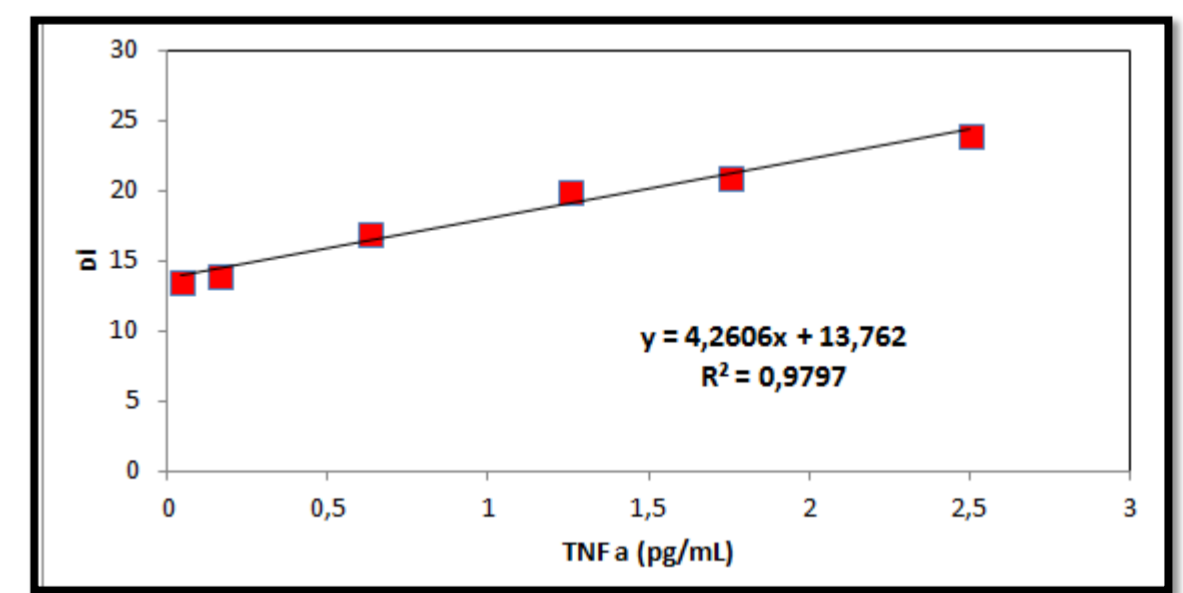
Alzheimer gibi nörodejeneratif bozuklukların inflamasyonla doğrudan ilişkisi vardır ve bu yollardaki biyomarkerlar hastalık öncesinde işaret verebilmektedir. Bunlar içerisinde en önemlilerinden birisi Tümör nekroz faktör alfadır. Glikoprotein yapısındaki bu sitokin belirlenmesine yönelik bir biyosensör geliştirilmesi, nörodejeneratif hastalıklarla ilgili olan bir biyomarkerin belirlenmesi ve yorumlanması açısından önem arz edecektir.

Buradan yola çıkarak, bu çalışmada potansiyel bir nörodejeneratif biyomarkeri olan TNF alfa tayinine yönelik bir biyosensör sistemi geliştirilmesi planlanmıştır. Literatürde TNF alfa tayinine yönelik biyosensörlere rastlanılmakla birlikte (Law, 2011; , Liu, 2013; Sun, 2013) geliştirdiğimiz biyosensörün kullan at tip elektrotlara dayanması ve ölçümler için taşınabilir-kolay kullanımlı potansiyostatın tercih edilmesi gibi noktalardan dolayı diğer çalışmalardan ayrılmakta ve üstünlük göstermektedir.

Taşınabilir potansiyostat ile alınan yanıtlar

Kullan at screen printed elektrot yüzeylerine biyosensörün dizaynından sonra, TNF α biyomarkerına ait ölçümler DROPSTAT (Spain) taşınabilir potansiyostatla alınmıştır. Şekil 7 bu cihaza ait görünümüdür.

Farklı standart konsantrasyonlardaki TNF α çözeltileri kullan at elektrotların yüzeyine damlatılmış ve çok kısa bir sürede ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler alındıktan sonra sonuçlar cihaza ait yazılım yardımıyla taşınabilir bilgisayara aktarılmış ve standart grafik (tayin aralığı: 0,039-2,5 pg/mL) çizilmiştir.



SONUÇ VE ÖNERİLER

✓ Gelişmiş sanayi toplumlarında yaşam sürecinin uzaması yeni sorunları da beraberinde getirmektedir. İnflamasyon, Alzheimer, Parkinson, gibi nörodejeneratif hastalıkların etiyolojisinde bulunmaktadır.

✓ Bu projede tasarlanan kullan at tip biyosensörün ölçümleri taşınabilir potansiyostat aracılığıyla yapılmıştır. Bu cihazın kullanımı basit, ölçüm süresi hızlı ve nispeten ucuzdur.

Kullan at elektrot yüzeyinde gerçekleştirilen kimyasal modifikasyon da pratik ve maliyeti düşüktür. Bu noktadan yola çıkarak tasarladığımız biyosensörün, hedeflediğimiz amaçlara ulaştığını ve bir biyosensörde olması gereken temel nitelikleri taşıdığını söylemek mümkündür.

Gerçek serum uygulaması

Çalışmanın birincil amaçları arasında olan, taşınabilir potansiyostat ve kullan at biyosensörlerle TNF alfanın gerçek serumda belirlenmesi için üniversite hastanesinden temin edilen 5 farklı insan serumuyla ölçümler gerçekleştirildi.

Bu amaçla alınan serumlar öncelikle biyosensörün tayin aralığına fosfat tamponu (pH 7.0) yardımıyla seyreltilti. Daha sonra örnekler geliştirilen biyosensör yüzeyine damlatıldı ve taşınabilir potansiyostatla ölçümleri çok kısa bir sürede gerçekleştirildi. Elde edilen veriler kalibrasyon grafiği yardımıyla yorumlandı

Serum No	TNF alfa seviye aralığı ve ortalaması (pg/mL)	Geliştirilen biyosensörle bulunan sonuçlar (pg/mL)
1	0,0-32,5, 11,3	14,5
2	0,0-32,5, 11,3	16,2
3	0,0-32,5, 11,3	4,4
4	0,0-32,5, 11,3	2,1
5	0,0-32,5, 11,3	9,7