

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜZEY PLAZMON REZONANSINA DAYALI
YENİ BİR ALGILAYICI GELİŞTİRİLMESİ**

BURAK TÜRKER

**DOKTORA TEZİ
ELEKTRONİK VE HABERLEŞME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ELEKTRONİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. LALE ÖZYILMAZ**

**EŞ DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. AYKUTLU DÂNA**

İSTANBUL, 2013

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜZEY PLAZMON REZONANSINA DAYALI
YENİ BİR ALGILAYICI GELİŞTİRİLMESİ**

Burak TÜRKER tarafından hazırlanan tez çalışması **23/12/2013** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Lale ÖZYILMAZ

Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Yrd. Doç. Dr. Aykutlu DÂNA

Bilkent Üniversitesi

TİK Üyeleri

Prof. Dr. Tülay YILDIRIM

Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Şenol MUTLU

Boğaziçi Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Burcu ERKMEN

Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Hamdi TORUN

Boğaziçi Üniversitesi

Prof. Dr. Mustafa ÇULHA

Yeditepe Üniversitesi

Bu alışma, Türkiye Cumhuriyeti Devlet Planlama Teşkilatı'nın bir projesi olan UNAM bünyesinde gerçekleştirilmiş, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun 107T547 numaralı projesi çerçevesince kısmen fonlanmış ve T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı'nın Teknogirişim Sermayesi Destek Programı kapsamında tez çıktılarının endüstriye transfer edilmesi maksadıyla desteklenmeye uygun görülmüştür.

ÖNSÖZ

Yazarın ve çalışma yürütücülerinin bu tez çalışması sırasında sahip olduğu temel motivasyon ve kaygı, bu çalışma esnasında üretilen akademik araştırma çıktılarının tez raporu sayfalarında yitip gidecek bir arşivlemenin ötesine geçerek gerçek hayatta uygulanabilir bir teknolojiye dönüştürülmesi yönünde olmuştur. Kendi teknolojisini üretebilen ve bunu yüksek katma değerlerle ticarileştirmeyi hedefleyerek hem yurt içi hem de yurt dışındaki kullanılabilir alanlara uygulamayı başaran gelişmiş ülkelerdeki örneklerine yaklaşmaya çalışma arzusu taşıyan yeni nesil bilimsel araştırma kültürümüz açısından işbu doktora çalışmasının ümit verici bir model teşkil edebileceğine inanmaktayım. Bu düşünce ve duygular içerisinde;

Almanya'daki yüksek lisans eğitimimi tamamladıktan sonra Yıldız Teknik Üniversitesi'ne yapmış olduğum doktora başvurusu sırasındaki intibak sürecimde her türlü kolaylığı ve anlayışı benden esirgemeyen ve ilk tez danışmanım olan Sayın Oruç Bilgiç'e; YTÜ'de ders alma dönemimde alanındaki derin bilgi ve motivasyonu Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji konusunda ufkumu açan ve bu alanda çalışmak için bende eşsiz bir istek uyandıran hocam Sayın Atilla Ataman'a; YTÜ'nün öğrencilerine sağladığı ortak ders havuzu programı sayesinde İstanbul Teknik ve Boğaziçi Üniversitelerinde nanoteknoloji konusundaki bilgi ve vizyonumu genişletmemi sağlayan hocalarım Sayın Levent Trabzon, Arda Yalçinkaya ve Şenol Mutlu'ya; Çalışma sürecimde göstermiş oldukları her türlü anlayış, yardım ve destek için YTÜ'deki hocalarım Sayın Tülay Yıldırım ve Lale Özyılmaz'a; Doktora tez çalışmalarımı yapmak üzere yer araştırması yaparken benimle yakından ilgilenen, tez eş danışmanım olmayı kabul eden, UNAM'daki çalışmalarım sırasında sıradışı pratik ve teorik birikimlerinden faydalanma fırsatını yakalamış olduğum, bilim-teknoloji-sanayi ilişkisinin zorunluluğuna dair bugün sahip olduğum düşüncelerin ortaya çıkmasına çok olumlu katkıları bulunmuş olan danışman hocam Sayın Aykutlu Dâna'ya; UNAM'da çalışmamı uygun görerek ileriki dönemlerde de her türlü moral desteğini esirgemeyen enstitü müdürümüz Sayın Salim Çıracı'ya; UNAM'daki çalışmalarımızda bize önerdiği ortak araştırma-geliştirme faaliyetleri çerçevesinde benzersiz desteklerde bulunan Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği'ndeki hocamız Sayın Erhan Pişkin'e; UNAM'daki tez çalışmaları sürecimde yanımda olan sevgili çalışma arkadaşlarım Hasan Güner, Öner Ekiz, Sencer Ayas, Mustafa Ürel, Serkan Karayalçın, Handan Acar ve adını burada anmadığım tüm UNAM'lılara minnet ve şükranlarımı sunuyorum.

Haziran, 2013

Burak TÜRKER

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	vii
KISALTMA LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xiv
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	19
1.1 Literatür Özeti	19
1.2 Tezin Amacı	22
1.3 Hipotez	25
BÖLÜM 2	
YÜZEY PLAZMON REZONANSINA DAYALI ALGILAMA	27
2.1 YPR'nin Çalışma Prensibi	29
2.2 YPR'na Dayalı Algılama ve Değerlendirme Prensibi.....	32
2.3 Prizma Yerine Kırınım Ağı.....	35
BÖLÜM 3	
KIRINIM AĞI YAPISININ HAZIRLANMASI	41
3.1 Kırınım Ağı Yapısı.....	41
3.2 Kırınım Ağı Yapısının Modifikasyonu	42
3.2.1 Disk Üzerindeki Yapının Ortaya Çıkartılması	43
3.2.2 Kırınım Ağı Derinliğinin Ayarlanması	45
3.3 Kırınım Ağının Optimizasyonu.....	46
3.4 Materyal ve Yöntem	48

3.5	Metal Kaplama İşlemi	49
3.6	Yapılan Denemeler ve Sonuçları	51
3.7	Kullanılan Deney Düzenekleri	56
3.7.1	Düzeneğin Tasarlanması.....	57
3.7.2	YPR Anının Gözlemlenmesi.....	58
BÖLÜM 4		
ÖZGÜN BÜTÜNLEŞİK ALGILAMA MEKANİZMASI		59
4.1	Akış Sisteminin Oluşturulması	59
4.2	Deney Düzeneğinin Oluşturulması	61
4.3	Bütünleşik Algılayıcı Mekanizmanın Prensipte Çalışırlığının Araştırılması	63
4.3.1	Kırınım Ağı Profilleri.....	63
4.3.2	Optimize Edilmiş Kırınım Ağında Yüzey Plazmonları	66
4.3.3	Bütünleşik Sistem ve Deney Protokolü	67
4.3.4	Sıvı Akış Sistemi İçerisinde Plazmonik Rezonans Ölçümleri	68
BÖLÜM 5		
AKIŞ SİSTEMİ, ALGILAYICI TABAN ve BÜTÜNLEŞTİRMEYE YÖNELİK İLERİ ÇALIŞMALAR..		71
5.1	Mikro Ölçekli Akış Kanalı Oluşturulması	71
5.2	Uygun Kanal Tasarımının Oluşturulması.....	73
5.3	Mikro-Akışkan Kanalin Üretimi	74
5.3.1	Pyrex Cam Üzerinde PR Şekillendirilmesi	76
5.3.2	Si-Alttaşı Üzerinde PR Şekillendirilmesi.....	77
5.3.3	Sonuçlar	79
5.4	Mikro-Akışkan Kanalin Tabaa Bütünleştirilmesi	80
5.5	Kanal Tasarımının Optimizasyonu	81
5.6	Kırınım Ağı Yapısının Kopyalanarak Cam Yüzeye Geçirilmesi	82
5.7	Algılayıcı Sistemin Bütünleştirilme Aşamaları.....	86
BÖLÜM 6		
BİYOMOLEKÜLER ETKİLEŞİM DENEYLERİ		90
6.1	Deney Protokollerinin Oluşturulması	90
6.2	DeneySEL Etkileşimlerin Algılanma Sistematiği	92
6.3	Deney Düzeneği ve Ölçüm Sistematiği	94
6.4	Kullanılan Bütünleşik Algılayıcı Platformlar	97
6.5	Prob Moleküllerinin Algılayıcı Yüzeye Tutturulması	98
6.5.1	Yüzey Immobilizasyonu Deney Seti (Makro Kanallı)	99
6.5.2	Alınan İlk Sonuçların Değerlendirilmesi.....	104
6.5.3	Uygulanan Prob Immobilizasyon Deneylerinin Sonuçları	105
6.6	Hedef Moleküllerin Algılayıcı Yüzeyden Geçirilmesi (Makro Kanallı).....	108
6.6.1	Uygulanan Hedef Geçirme Deneylerinin Sonuçları	109
6.7	Etkileşim Deneylerinin Mikro-Kanallı Bütünleşik Sistemde Tekrarlanması.....	112

BÖLÜM 7

SONUÇ VE ÖNERİLER	115
KAYNAKLAR.....	123
ÖZGEÇMİŞ.....	129

SİMGE LİSTESİ

θ	Işığın yüzeye geliş açısı
n	Ortamın ışığı kırma indisi
ϵ	Ortamın geçirgenliği
k	Dalga vektörü
ω	Açısal frekans
c	Işık hızı
λ	Işık dalgaboyu
mV	Işığın momentumu
m_n	Işığın kırınım seviyeleri
α, β	Rezonans açısı (gelen ışığın normalle yaptığı açı), yansıma açısı
d	Kırınım ağında oluklar arası mesafe
Λ	Kırınım ağı periyodu
Q_B	Parıldama açısı
ψ	Polarizasyon değişimi
Δ	Faz kayması / Açısal kayma farkı
A	Amper – akım birimi
Hz	Hertz – frekans birimi

KISALTMA LİSTESİ

AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
Ag/Au/Al/Cr	Gümüş/Altın/Alüminyum/Krom
CF ₄	Tetraflorametan
CHF ₃	Carbon Hydra-Trifluoride
CD/DVD/BD-R	Kompakt Disk/Dijital Video Diski/Bluray Diski-Tekrar Kaydedilebilir
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ICP	Inductively Coupled Plasma
IPA	İzopropil alkol
MCH	Mercaptohexanol
MTB	Mycobacterium tuberculosis
MIM	Modifiye İntegral Metodu
nm	Nanometre
PDMS	Polydimethylsiloxane
PMMA	Polymethyl methacrylate
PR	Photo Resist
RCWA	Rigorous Coupled Wave Analysis
RIU	Refractive Index Unit
SEM	Scanning Electron Microscope
SU-8	Epoksi bazlı fotorezist malzeme
SF ₆	Sulfur hegzaflorit
Si	Silisyum (cam)
SPR	Surface Plasmon Resonance
TE	Transverse Electric <i>modu</i>
TM	Transverse Magnetic <i>modu</i>
UNAM	Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi
WHO	World Health Organization
YPR	Yüzey Plazmon Resonansı
YPP	Yüzey Plazmon Polariton

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 YPR'nin temel prensibi – Snell Yasası	30
Şekil 2. 2 Yüzey Plazmon dalgalarının oluşumu ve rezonans anı	31
Şekil 2. 3 Yüzey Plazmonlarına dayalı algılama prensibi	33
Şekil 2. 4 YPR'nın Değerleme Prensibi	34
Şekil 2. 5 Kırınım Ağı Prensibi	36
Şekil 2. 6 Kırınım Ağı Prensibi – kırınım seviyeleri	37
Şekil 2. 7 Kırınım Ağı Prensibi – parıldama açısı	39
Şekil 2. 8 Kırınım Ağına dayalı algılama yöntem	40
Şekil 3. 1 Örnek bir kırınım ağının AFM yüzey topografisi ve SEM görüntüsü	42
Şekil 3. 2 DVD diskin fiziksel yapısı.....	44
Şekil 3. 3 Plakaları ayrılmış DVD diski.....	44
Şekil 3. 4 662 nm ışık kaynağıyla farklı kırınım ağı derinliklerinde görülen YPR eğrileri	45
Şekil 3. 5 Farklı derinliklerde aşındırılmak üzere hazırlanmış DVD kesikleri.....	48
Şekil 3. 6 35 nm derinliğindeki optimize edilmiş kırınım ağı yapısının AFM ile deneysel olarak ölçülmüş çizgisel profilinin simulasyon sonucu teorik olarak hesaplanmış sinüzoidal kırınım ağı profiliyle karşılaştırılması	48
Şekil 3. 7 Gelme açısına bağlı olarak farklı metal kaplamalarında yansıma spektrumu	49
Şekil 3. 8 TM modlarındaki yansıma, transmisyon ve soğurulma verileri simulasyon sonuçları.....	50
Şekil 3. 9 50 nm Ag kaplı aşındırılmış DVD örneği	51
Şekil 3. 10 50 nm Ag kaplı aşındırılmış DVD örneğinin elipsometrik ölçümü	52
Şekil 3. 11 Deneme 1'deki örneğin ısı yöntemiyle (170 C hot plate) iyileştirilmesi sonrası (a) örnek yüzeyi ve (b) örneğin AFM yüzey topografisi.....	52
Şekil 3. 12 (a) DVD disk parçası üzerine (b) hızlı döndürme yöntemiyle yayılan ince bir PDMS tabakası yardımıyla (c) kopyalanan kırınım ağı yapısı, (d) ince bir fotorezist tabakası üzerine (e) baskılama yapılan PDMS kalıbı ısı işleme tabi tutulduktan sonra (f) yüzeyden sökülerek alttaki Si taban üzerine geçirilir	53
Şekil 3. 13 DVD disk üzerinden PDMS ile kalıplanmış kırınım ağı yapısı	53
Şekil 3. 14 (a) PDMS kalıpla ince cam taban üzerine baskılanmış kırınım ağı yapısı, (b) PDMS kalıpla baskılanmış kırınım ağı yapısı	54
Şekil 3. 15 Maxell DVD-RW diskin işlenmemiş yüzey yapısı	54
Şekil 3. 16 35 nm Ag kaplı Maxell DVD-RW örneğinin elipsometrik ölçümü	55
Şekil 3. 17 Optik deney düzeneği	57

Şekil 3. 18 Sıvı Akış Haznesi.....	57
Şekil 3. 19 (a) Yansıma Modu, (b) Transmisyon Modunda kameralı görüntüleme, (c) Transmisyon Modunda bütünleşik algılayıcı tabanla okuma yapma	58
Şekil 3. 20 YPR anının transmisyon modunda gözlemlenmesi	58
Şekil 4. 1 Bütünleşik Akış Hücresi Tasarımının Optimizasyonu: (a), (b) Akış giriş-çıkış borulamaları, (c) Işık algılayıcı tabanın kabloları	60
Şekil 4. 2 Bütünleştirilmiş algılayıcı mekanizmanın katmanları	61
Şekil 4. 3 Biyomoleküler Etkileşimleri Algılamak üzere oluşturulmuş Deney Düzenegi	62
Şekil 4. 4 Deney düzeneginin kontrol ve okuma birimleri ile olan bağlantıları	62
Şekil 4. 5 Labview arayüzünde artı ve eksi birinci ve ikinci plazmonik harmoniklerinin oluşumunun gözlenerek kaydedilmesi	63
Şekil 4. 6 DVD’lerde doğal olarak bulunup optimize edilebilen kırınım ağı yapısı	63
Şekil 4. 7 Optimize edilmiş kırınım ağının AFM hat profili	64
Şekil 4. 8 Optimize edilmiş kırınım ağının PCGrate’e taşınmış hat profili	64
Şekil 4. 9 Optimize edilmiş kırınım ağı yapısının havada 550 nm’lik dalgaboylu ışık altında sergilediği yansıma davranışının 1. ve 2. dereceden plazmonik rezonans uyarılmaları gösterdiği deneysel ve teorik sonuçları	65
Şekil 4. 10 Bahsedilen kırınım ağı yapısının 2 farklı dalgaboyunda keskin rezonans veren elipsometrik ölçümü.....	66
Şekil 4. 11 Bütünleşik algılayıcı mekanizmanın, hava ortamında ışığın gelme açısının bir fonksiyonu olarak ölçülmüş, deneysel ve teorik ışık-akımı cevabı	67
Şekil 4. 12 Aygıtın kesitsel şematiği	67
Şekil 4. 13 Algılayıcı mekanizmanın PMMA’dan yapılmış bütünleşik akışkan kanalı ve giriş/çıkış borulamalarıyla çekilmiş fotoğrafı	68
Şekil 4. 14 (a) Farklı kırma indisi olan iki farklı sıvı için, aygıtın transmittivitesinin ışığın gelme açısının fonksiyonu olarak hesaplanmış hali, (b) Işık-akımının saf su (DI water) ve %5’lik NaCl çözeltisine verdiği cevabın ışığın gelme açısına bağlı olarak ölçümü	69
Şekil 4. 15 Algılayıcı mekanizmanın değişen sıvılara maruz kaldığında birinci dereceden (a) ve ikinci dereceden (b) rezonans pikleri etrafında sergilediği davranış ..	70
Şekil 5. 1 Mikroakışkan kanal tasarım ve üretimi	72
Şekil 5. 2 (a) Grafik programıyla oluşturulmuş çeşitli kanal desenleri, (b) Kanal desenlerinin yüksek çözünürlükte asetat kağıdı üzerine çıktılanmış halleri, (c) Desenlerin maske yazıcısı kullanılarak cam bir tabla üzerine kromdan şekillendirilmiş halleri	73
Şekil 5. 3 Maske Hizalayıcısı: Hazırlanmış desenlerin kalıp tabanına fotolitografik olarak geçirilmesi işlemi	74
Şekil 5. 4 (a) Döndürerek kaplama yapan cihaz, (b) Isıl olarak PR malzemeyi sertleştiren ısıtıcı plakalar	75
Şekil 5. 5 (a) AZ 1505, (b) AZ 4533, (c) AZ 5214 ve (d) SU-8 PR malzemeleri ile denenmiş çeşitli Si-altaş kalıp örnekleri	76
Şekil 5. 6 Pyrex cam üzerine aktrıldıktan sonra HF ile ıslak aşındırma işlemine sokulmuş örnek	77

Şekil 5. 7	(a) Pyrex cam üzerine aktarıldıktan sonra ICP cihazında kuru aşındırılmış taban örneği, (b) Si-altaş üzerine desenler aktarıldıktan sonra SU-8 film banyosu solusyonu ile ıslak olarak aşındırılmış taban örneği	78
Şekil 5. 8	ICP (Inductively Coupled Plasma) cihazı	78
Şekil 5. 9	Mikro ölçekli akış kanalı oluşturma deneylerinden alınan sonuçlar	79
Şekil 5. 10	İçinden yeşil boyar maddeli sıvı geçirilmiş örnek bir akış-kanalı	80
Şekil 5. 11	(a) Mekanik delgeç aleti, (b) Oksijen plazma cihazı	80
Şekil 5. 12	Optimize edilmiş olan mikro-kanal yapısının(a) Geometrisi, (b) Hazırlanmış maskesi, (c) Fotolitografi ile şekillendirilmiş hali	81
Şekil 5. 13	ICP prosesinin metodolojisi	83
Şekil 5. 14	Derinliği ayarlanmış kırınım ağı yapısından çıkartılmış PDMS kalıbının (a) AFM çizgisel profili, (b) 2D AFM yüzey yapısı, (c) 3D AFM yüzey yapısı	84
Şekil 5. 15	ICP ile cam yüzeyine geçirilmiş kırınım ağı yapısının (a) AFM çizgisel profili, (b) 2D AFM yüzey yapısı, (c) 3D AFM yüzey yapısı	85
Şekil 5. 16	Mikro-kanal yapısının: (a) Fotolitografi ile şekillendirilmiş olan kalıptan şeffaf PDMS malzemeye geçirilme aşaması, (b) PDMS malzemeden kesilerek kullanıma hazır hale getirilmiş hali	86
Şekil 5. 17	Isıl buharlaştırma cihazının iç odası	87
Şekil 5. 18	Cam yüzeyine geçirilmiş kırınım ağı yapılarının ince metal film kaplama sonrası görünüşleri	88
Şekil 5. 19	Işık algılayıcı sisteme (a) plazmonik algılayıcı yapının ve (b) mikro-kanallı akış yapısının bütünleştirilmesi	89
Şekil 6. 1	Biyomoleküler etkileşim deneylerinin şematik gösterimi	91
Şekil 6. 2	Yüzeye tutturulan, thiol grubu ile sonlandırılmış tek iplikçikli Mycobacterium tuberculosis (MTB) probu	92
Şekil 6. 3	MTB probunun (a) yüzey immobilizasyonu, (b) bloklama ajanıyla doğru yönelime getirilmesi, (c) eşlenik DNA iplikçik yapısı ile hibridizasyonu	92
Şekil 6. 4	YPR prensibine dayalı karakteristik ölçüm ve algılama metodolojisi	93
Şekil 6. 5	MTB prob ve hedef kinetiğine YPR algılayıcı mekanizmanın verdiği cevap ..	93
Şekil 6. 6	Biyomoleküler Etkileşimleri Algılamak üzere oluşturulmuş Deney Düzenneği	94
Şekil 6. 7	Labview arayüzünde artı ve eksi birinci ve ikinci plazmonik harmoniklerinin oluşumunun gözlenerek kaydedilmesi ve çalışma bölgesinin seçilmesi	95
Şekil 6. 8	Algılayıcı bütünleşik mekanizmanın yüzeyinde gerçekleşen moleküler etkileşimlere verdiği gerçek zamanlı cevaplar	96
Şekil 6. 9	YPR prensibine dayalı karakteristik ölçüm ve algılama metodolojisi	96
Şekil 6. 10	(a) Bütünleşik mikro-kanal yapısı, (b) Bütünleşik makrokanal hücre yapısı	97
Şekil 6. 11	Biyomoleküler etkileşim deneylerinin şematik gösterimi	98
Şekil 6. 12	Temas açısı ölçüm cihazı ile yapılan yüzey enerjisi ölçümü	100
Şekil 6. 13	Temas açısı ölçüm sonuçları	100
Şekil 6. 14	AFM ölçüm sonuçları	101
Şekil 6. 15	Bütünleşik YPR algılayıcı mekanizmalı deney düzenneğinden alınan grafik çıktıları	102
Şekil 6. 16	Farklı derişimlerdeki yüzey immobilizasyonunun yarattığı YPR açılarındaki karşılaştırmalı kayma miktarları	103
Şekil 6. 17	Gerçek zamanlı algılayıcı cevabını yakalama deneyleri.....	103

Şekil 6. 18	Algılayıcı bütünleşik mekanizmanın farklı derişimlerdeki (a) 0.25µM , (b) 0.5µM, (c) 1µM’lık problemlerin yüzeye immobilizasyonu sırasında verdiği cevaplar	104
Şekil 6. 19	Algılayıcı bütünleşik mekanizmanın farklı derişimlere cevapları	106
Şekil 6. 20	Algılayıcı yüzeyden geçirilmiş olan farklı derişimlerdeki prob moleküllerin zamana bağlı olarak yüzeye tutunmalarını sergileyen grafik gösterimi ...	107
Şekil 6. 21	Algılayıcı bütünleşik mekanizmanın farklı derişimlerdeki (a) 0.5µM, (b) 1 µM ve (c) 2 µM’lık hedeflerin yüzeydeki prob moleküllere bağlanma sırasında verdiği cevaplar	109
Şekil 6. 22	Hedef molekül olarak sırasıyla (a) 0.5 µM, (b) 1 µM ve (c) 2 µM’lık derişimlerin kullanıldığı deney protokolünün tüm adımlarının gösterimi	110
Şekil 6. 23	Hedef molekül olarak sırasıyla 2 µM, 1 µM ve 0.5 µM’lık derişimlerin kullanıldığı deney protokolünün sadece prob-hedef etkileşiminin gerçekleştiği bölümlerinin gösterimi	112
Şekil 6. 24	Cam yüzeyine geçirilmiş kırınım ağı yapılarının bütünleşik mikro-kanal yapısı ile birlikte kullanıldığı tekrarlamalı kıyaslama deney serisi	113
Şekil 6. 25	Mikro-kanal içerisinde gerçekleştirilen etkileşim adımlarının algılayıcı tabanda yaratmış olduğu zamana bağlı değişimlerin gösterimi	114

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 3. 1	Optik disklerin fiziksel verileri 44
Çizelge 6.1	Algılayıcı yüzey okumalarında farklı prob derişimleri sonucu ölçülen rakamsal değişimler 106
Çizelge 6.2	Algılayıcı yüzey okumalarında farklı hedef derişimleri sonucu ölçülen rakamsal değişimler 109

**YÜZEY PLAZMON REZONANSINA DAYALI
YENİ BİR ALGILAYICI GELİŞTİRİLMESİ**

Burak TÜRKER

Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Lale ÖZYILMAZ

Eş Danışman: Yrd. Doç. Dr. Aykutlu Dâna

Nanoteknoloji alanında özellikle son birkaç on yılda gerçekleştirilmiş olan ilerlemeler neticesinde sensör teknolojileri kendisine *biyosensör uygulamaları* başlığı altında yeni bir araştırma, çalışma ve uygulama alanı yaratmış bulunmaktadır. Başlangıçta basınç, sıcaklık, hareket, nem, yoğunluk, akışkanlık gibi temel fiziksel ve kimyasal değişkenlerin algılanması ile başlamış olan sensör uygulamaları, biyoteknoloji kavramının ortaya çıkması ve moleküler düzeyde gerçekleşen değişimleri algılayabilecek yeni tekniklerin keşfedilip uygulamaya alınmasıyla birlikte yeni bir döneme girmiştir.

Bu bağlamda bilimsel yazına ‘yüzey plazmon rezonansı’ olarak girmiş olan teknik, ışığın bir takım özel koşullar altında bir yüzeye düştüğünde maruz kaldığı yansımalarındaki ilginç değişimlerin altında yatan gerçeğin fiziksel ve matematiksel olarak yorumlanması ve modellenmesi sonucunda 20. yüzyılın ilk yarısında keşfedilmiş bir olgu olarak karşımıza çıkmaktadır. 1980'lere kadar fiziksel ve matematiksel modellemesinin araştırıldığı bu teknik, 90'ların başında İsveçli bir grup bilim adamı tarafından ilk defa bir algılayıcı arayüz olarak kullanılmış ve bu yöntemle gaz ölçümü yapılmıştır. İlerleyen yıllarda bu ilk denemeden ilham alan araştırmacılar tarafından moleküllerin birbirlerine seçici olarak bağlanıyor olmalarından yola çıkılarak, bu bağlanmaların kinetik olarak

takip edilebilmelerini sağlayacak ve beklenen bağlanmaların gerçekleşip gerçekleşmediğini saptayabilecek olan, moleküler düzeyde algılama yapabilen biyoalgılayıcıların tasarlanabileceği düşüncesi etrafında bilimsel çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Günümüze gelindiğinde artık bu tekniğin laboratuvarlarda kullanılan geleneksel yöntemlere kıyasla daha hızlı sonuç verebilen, oldukça hassas ve güvenilir ve uygulaması oldukça zahmetsiz ve zaman almayan bir alternatif olabileceğine dair düşünceler kuvvetlenmektedir.

Bu tez çalışmasının konusu da işte bu tekniği kullanarak biyoalgılayıcı olarak çalıştırılmaya müsait yenilikçi bir opto-elektro-mekanik algılama mekanizmasının geliştirilmesini ve birtakım öncül uygulamalarla sistemin denenmesini kapsamaktadır.

Algılama arayüzü olarak kullanılan yüzey plazmonlarını uyaracak özel bir yüzeyin yenilikçi üretim teknikleri kullanılarak geliştirilmesi ve üretilmesi, opto-elektronik arayüz olarak kullanılan yenilikçi bir yaklaşım dahilinde sinyalleri toplayan bütünlük ve yüksek oranda minyatürize edilebilir bir sistemin oluşturulması, bu tez çalışmasının temelini oluşturmaktadır. Sistemin prensipte çalışırlığını ispatlamak amacıyla hazırlanmış olan sıvı çözeltilerindeki çok küçük indis değişimlerinin tekrarlanabilir ve yüksek hassasiyetle saptanabildiğini gösteren deneysel bir takım çalışmalar yapılmıştır. Geliştirilen algılama mekanizmasının muhtemel bir biyoalgılayıcı olarak da özelleştirilmeye müsait olduğunu göstermek maksadıyla tez çerçevesinde DNA hibridizasyonunun gerçek zamanlı takibine yönelik bir uygulama denemesi de yapılmış ve alınan ümit verici sonuçlar son bölüm içerisinde sergilenmiştir. Bahsi geçen deneysel öncül çalışmaların ümit verici uygulama neticelerinde sonlandırılmış olan bu tez çalışması, ileri uygulama alanlarının çeşitlendirilmesi maksadıyla devam edecek olan bir takım farklı projeler çerçevesinde geliştirilmesine devam edilerek, bu uzun soluklu bilimsel araştırmalar esnasında patentlenmiş olan algılama mekanizmasının ticarileştirilebilir/endüstriye transfer edilebilir bir son ürüne dönüştürülmesi yolundaki faaliyetler de hız kesmeden sürdürülmektedir.

Anahtar Kelimeler: yüzey plazmon rezonansı, kırınım ağı yapılı YPR sensör, opto-elektro-mekanik biyosensör platformu, bütünlük akış sistemli sensör, moleküler algılayıcı, biyoalgılayıcı tasarımı.

**DEVELOPMENT OF A NOVEL SENSOR BASED ON
SURFACE PLASMON RESONANCE**

Burak TURKER

Department of Electronics and Communications Engineering

PhD Thesis

Advisor: Assist. Prof. Dr. Lale OZYILMAZ

Co-Advisor: Assist. Prof. Dr. Aykutlu Dana

Remarkable advances especially in the last several decades in the field of nanotechnologies have established a new research field so called as *biosensor applications* under field of sensor technologies. Pioneering sensor applications capable of detecting fundamental physical and chemical parameters alike pressure, temperature, movement, moisture and density have now started to evolve capability of sensing changes in molecular levels with thanks to the progress in biotechnology due to the advances in nanotechnologies.

In this sense, the technic so called as ‘surface plasmon resonance’ in scientific literature, emerges as a phenomenon that has been first observed in the first quarter of 20th century and it is based on analysis and mathematical modeling of the fact behind the nature of reflections when light beams are incident on a specific surface under certain conditions.

Investigation of whose mathematical modelling long lasted till 1980’s, was then first utilized as a sensing interface in the beginning of 1990’s by a group of swedish scientists and this phenomenon was used in the implementation of gas sensing.

In the following years researchers inspired with this trial have initiated an approach in order to design bio-sensing platforms that would have a sensing ability in molecular level for detection and monitoring of binding interactions that occurs selectively among molecules.

Today the idea about this technique to be a faster, more sensitive, reliable and easily applicable alternative to conventional methods gets much more stronger.

Herein this doctorate thesis work is based on the aforesaid approach within the scope of researching an integrated novel opto-electro-mechanical biosensor mechanism and developing a sensing platform assisted by some specific interaction protocols for the validation of overall system capabilities.

This thesis work is fundamentally based on a novel approach for the development and production of a special substrate that will excite the surface plasmons that are utilized as the detecting interface. So that emergent sensing platform functions as a signal detecting opto-electronic interface in the form of an integrated opto-electronic interface that can be miniaturized at very high-levels.

Proof-of-principle functionality of the overall sensing platform has been evaluated by a group of experimental researches in order to demonstrate its capability to detect very small index changes occurring in several certain projected liquid solutions and emergent promising results have been published in Lab On Chip journal of the Royal Society of Chemistry.

Finally with the goal of demonstration so that the developed sensing platform can be utilized as a promising bio-sensor, real-time monitoring of a specific DNA hybridization protocol have been implemented and thereafter its related promising results have been exhibited in the last section. Within the scope of this thesis work, concluding afore mentioned precursor experimental implementations with a set of promising outcomes has satisfactorily opened the path for devising new possible future applications using this sensing platform. These long-lasting experimental researches have meanwhile resulted in a patented sensing mechanism with a high added value that could be transferred into industry and without cutting any speed the activities with the goal of ending up with a compact device that would be presented to its end-users are currently still carried on.

Keywords: Surface Plasmon Resonance, Grating-Coupled SPR sensor, Opto-electro-mechanic biosensor platform, integrated microfluidics, biomolecular sensor, biosensor design.

1.1 Literatür Özeti

İngilizce kaynaklarda '*Surface Plasmon Resonance*', kısaca SPR olarak tanımlanan '*Yüzey Plazmon Rezonansı*' (YPR) olayının parçacık teorisine dayalı opto-elektronik temeli, ışığın fotonlarıyla taşınan enerjisinin, bir metalin içerisinde bulunan elektronlara 'eşlenebilmesi' ya da aktarılması gerçeğine dayanmaktadır. Bu eşlemenin (yani enerji transferinin) gerçekleştiği dalga boyu, yüzeyi aydınlatılan belirli bir metal ya da ortamın niteliklerine bağlıdır. Görünür dalga boylarında bu şartı sağlayan birkaç tane metalden en çok kullanılanları altın ve gümüştür [1].

Bahsedilen bu eşleme, metal yüzeyinden yansıyan ışığın miktarının ölçülmesi ile gözlemlenebilmektedir. Gelen tüm ışığın soğurulduğu titreşimli dalga boyu dışında tüm ışık yansımaktadır. Işık metal yüzeyine eşlenmesi, tek bir elektriksel varlık gibi davranan bir grup uyarılmış elektron olan *plazmon*un oluşmasına neden olur. Yüzey Plazmonları (YP), ters işaretli dielektrik sabitlerine sahip iki farklı ortamın arayüzeyindeki yük yoğunluğu salınımlarından oluşur. Yük yoğunluğu dalgası ile birlikte ortaya çıkan elektromanyetik dalga, arayüzeyde en büyük değerine ulaşır ve arayüzeyden uzaklaştıkça, her iki ortamın içlerine doğru üstel bir biçimde sönümlenir. Plazmonların oluşturduğu bu yüzey dalgası TM karakterli olup, sırayla, metal yüzeyinin altından ve üstünden yaklaşık 100 nanometre kadar açılan bir elektriksel alan oluşturur. Bu olayın özelliği ve bu haliyle YPR'yi analitik bir gereç yapan şey, plazmon alanının menzili içerisindeki ortamın kimyasal bileşimindeki herhangi bir değişikliğin, plazmon ile birlikte titreşime girecek ışığın dalga boyunda bir değişime sebep olmasıdır.

Yani, varolan kimyasal bir değişim, yansımayıp da soğurulan ışığın dalga boyunda kaymaya yol açacaktır ki, bu kaymanın büyüklüğü, nicel olarak kimyasal değişimin büyüklüğüyle ilişkili olmaktadır [2, 3].

SPR tekniği, oluşturulan düzenek içerisindeki ince metal kaplamayı çevreleyen ortamın kırınım indisinde oluşan değişimlerin anlık hassas ölçümlerine olanak sağlamaktadır. Örneğin belirli bir bağlanma kinetiği olan bir maddenin, metal yüzeyine tutunması ya da yüzeyden içeriye doğru emilmesi durumunda, diğer tüm parametrelerin sabit tutulması halinde, kırınım indisindeki değişim nedeniyle, rezonans açısındaki fark edilir değişim kolayca gözlemlenebilecektir. Bu kavramın önemi, birbirine bağlanacak olan maddelerin doğrudan etkileşimlerinin, yüzeyler arası ölçüm yoluyla tespit edilmesinde gelişmiş yeteneğe sahip olmasında yatmaktadır [4].

YPR'ye dayalı sensörler, bir tarafı mikroskopik incelikte altın tabakasıyla kaplanmış diğer tarafına ise elektronik prensiplerle çalışan algılayıcı bir yonga ve buna tümleştirilmiş mekanik prensiplere dayalı bir mikroakışkan akış sisteminin bitiştirildiği cam bir plakadan meydana gelmektedir. Cihazın optik tespit tertibatı ışığın rastlayacağı altın kaplı yüzeye temas etmekte, diğer yüzeyi ise analizin yapılacağı mikroakışkan akış sistemiyle temas etmektedir. Akış sistemiyle temas, kimyasal ayıraçların çözelti içerisine geçebileceği kanalların oluşmasını sağlamak ve analizi yapılacak yapıların bağlanma kinetiklerini bu kanallar üzerinden gerçekleştirmek için gereklidir.

SPR ölçüm metodunun uygulama alanlarından bahsedilecek olursa, bu metod, belirli bir bağlanma dinamiği olan her türlü molekül çiftine uyarlanabilmeye uygun görölmektedir. Bunlar bir antijen ve bir antibadi, bir DNA örneği ve bir tamamlayıcı DNA iplikçiği, bir enzim ve reaktanı olabilir. Bu ölçüm yönteminin tipik uygulama alanları arasında çevresel görüntüleme (gaz ölçümü) ya da biyo-algılama ve sıvılardaki immuno-algılama sayılabilir [5, 6].

Yüzey Plazmonlarının momentumlarının ışıktan daha büyük olması nedeniyle ortaya çıkan momentum uyuşmazlığı, düz bir yüzeydeki plazmonlara ışığın eşlenmesi için uygun durumu sağlamamaktadır. Aradaki momentum uyuşmazlığının kaldırılarak, ışıkla plazmon momentumlarını eşleştirmek üzere; prizma, kırınım ağı, dalga kılavuzu ya da entegre optik düzeneklerden yararlanılmaktadır [7, 2]. Sözü edilen tez çalışmasının

optik düzeneğini oluşturmak üzere, yukarıda sıralanan sistemler arasından ızgara-eşleme düzeneği seçilmiştir. Bu seçimin temelinde bu optik düzeneğin, tek kullanımlık sensörlerin laboratuvar imkanlarıyla çok sayıda ve uygun maliyetlerle üretilebilmesine olanak sağlaması yatmaktadır.

Bu eşlemeye fırsat sağlayacak olan uygun momentum anı, ışığın metal yüzeyine geliş açısı taranarak bulunmakta ve belirli bir açıda gerçekleşen momentum uyuşmasıyla beraber plazmona eşlenen ışığın geri yansımada ani bir düşüş yaşanmaktadır. Bu andaki açı, rezonans açısı olarak tanımlanır. YPR sensörlerinde algılanan fiziksel özellik, yüzey plazmonlarının etkilendiği kırınım indisidir. Ortamın kırınım indisindeki çok küçük değişimleri algılayabilen YPR sistemleri bulunmaktadır. Bu sistemler, ya 'rezonans civarındaki ışık şiddetinin ölçülmesi' ya da 'rezonans momentumunun açısal veya dalgaboyuna bağımlı olarak ölçülmesi' prensiplerini temel almaktadır. Bu yöntemlere ek olarak ışığın o andaki faz ve polarizasyon bilgilerinin saptanması gibi yöntemler de denenmiş olsa da, bunlar fazla kabul görmemiştir [7, 8, 6].

Belirli bir bağlanma kinetiği olan ve bu özelliklerinden yararlanılarak tespit edilmek istenen maddelerin birbirleriyle etkileşebilmeleri için kimyasal özellikler taşıyan sıvı bir ortam gerekmektedir. Mikro ölçeklerde laboratuvar koşullarını gerçeklemek üzere bu amaca yönelik olarak mikro-akış sistemleri oluşturmak mümkündür [9, 1, 2].

Yansıyan ışığın pozisyonu ve şiddetinin ölçülmesi aşamasında ise ışığa duyarlı fotodiyot ve/veya kamera dizileri kullanılabilmektedir [10]. Bu şekilde algılanıp elektriksel sinyale dönüştürülecek olan optik değişimlerin, sonraki aşamalarda işlenmek ve değerlendirilmek üzere elektronik bir düzenek yardımıyla toplanması mümkün olabilmektedir.

Işığın kırılarak plazmonlarla eşlenebilir hale getirilmesi için kullanılan kırınım ağlarının kırınım seviyelerinin hesaplanmasında faydalanılmak üzere '*Güçlü Eşlenmiş-Dalga Analizi*' (*Rigorous Coupled Wave Analysis-RCWA*) olarak isimlendirilen, modifiye edilerek hızlandırılmış olan bir takım karmaşık integral alma algoritmalarının [11, 12, 13, 14, 15, 16, 17] ve bu yöntemleri kullanarak hızlı simülasyon yapabilen bir uygulama olan PCgrate [18] gibi programların devreye alınması söz konusu olabilmektedir.

1.2 Tezin Amacı

(Biyo) moleküler etkileşimlerin nanometrik ölçeklerde analiz edilebilmesi için kullanılan farklı yaklaşımlar bulunmaktadır. Bu tez projesinde bunlardan bir tanesi olan ve algılama işini optik olarak çok hassas ve hızlı bir şekilde yapma yeteneğine sahip olan yüzey plazmon rezonansı tekniğinden faydalanılmaktadır. Plazmonlar bir takım özel yüzeylerin üzerinde halihazırda bulunan yapılardır. Bu yapıların bir şekilde uyarıldığı ilk olarak 1905 yılında Sir Robert William Woods tarafından keşfedilmiştir. Woods, yüzeysel pürüzlülüğü olan metal yüzeyler üzerine belirli koşullara uygun olarak düşürülen ışığın, normalde olduğu gibi yüzeyden direkt olarak yansımayıp aksine yüzey tarafından soğurulduğunu gözlemlemiştir [19]. Maxwell'in dalga çözümleme hesaplamaları yardımıyla bu fiziksel fenomen ilk olarak matematiksel anlamda açıklanabilmeye başlanmıştır.

Bu durumun matematiksel olarak sırrının çözülmüş olmasından seneler sonra 1980 başlarında İsveçli bilim insanları Nylander ve Liedberg, bu fenomenden faydalanarak ilk kez bir algılayıcı düzenek yapma fikrini oluşturarak, bu teknikle gaz sensörü yapılabileceğini laboratuvar ortamında göstermişlerdir [20]. Aradan geçen on sene sonrasında da bu fikir benimsenerek bu amaca yönelik cihaz tasarımlarının ticarileştirilerek araştırmacıların hizmetine sunulmasının önü açılmaya başlanmış olmuştur.

Günümüze geldiğimizde ise küresel anlamda bu işi ticarileştirmeyi başarmış sayısı çok da fazla olmayan bir takım işletmeler, SPR'ye dayalı bu sistemleri profesyonel anlamda geliştirmeye başlamışlardır. Fikrin anavatanı olan İsveç merkezli kurulmuş olan Biacore firması bu konuda oldukça uzmanlaşmış ve yakın bir geçmişte iş yapma potansiyeli keşfedilerek Amerikan şirketi GE (General Electrics) bünyesine dahil edilmiştir.

Bahsedilen yüzey plazmonlarının uyarılması için gerekli olan bir takım optik gereklilikler bulunmaktadır. Metal yüzeylerine belirli bir açıda gönderilen ışığın gerekli şekilde kırılabilmesi için kullanılan temelde üç farklı yaklaşım bulunmaktadır: Prizma, kırınım ağı ya da dalgakılavuzu yapısı. Prizmanın kullanım şekline bağlı olarak da *Otto* [21] ve *Kretschmann* [22] konfigürasyonları olmak üzere iki farklı yaklaşım bulunmaktadır. Geliştirilmiş olan mevcut tüm bilimsel cihaz tasarımları geleneksel olan prizma yapısını

kullanılmaktadır. Prizmanın hantal yapısı, sisteme bütünleştirilme zorluğu, pahalı oluşu ve tasarıma bir takım optik kısıtlar getiriyor oluşu, prizma kullanan cihazların hacim, boyut ve ağırlık olarak belirli sınırların altına çekilmesine engel olmaktadır. Bu tip cihazlar bu nedenlerden ötürü yalnızca laboratuvar koşullarında çalıştırılmaya uygun olarak tasarlanabilmektedir. Dalgakılavuz yönteminin devreye alındığı durumlarda ise optik kılavuz olarak kullanılan fiberlerin stabilizasyon sorunu tasarımları problematik bir hale dönüştürebilmektedir.

Bu çalışmada Yüzey Plazmon Rezonansı (YPR) tekniğine dayalı olarak çalışan, belirli bir bağlanma dinamiği olan her türlü molekül çiftini tespit ederek analizini mümkün kılan, opto-elektronik temelli tümleşik bir algılayıcı sistem tasarımı hedeflenmektedir. Konunun YPR boyutu kendi içerisinde zayıflayan dalga tekniğini temel alır. Bu bağlamda ağırlıklı olarak altın, gümüş ve alüminyum gibi metallerin ince film kaplaması olarak gösterdiği özelliklerden yararlanılmaktadır; yüksek kırınım indisine sahip bir malzeme üzerine kaplanan ince bir altın katmanı, laser ışığını emebilmekte ve böylece altın yüzeyinde elektron dalgaları (yüzey plazmonları) oluşmaktadır. Bu durum, gelen ışının sadece belirli bir gelme açısı ve dalgaboyuna sahip olduğu anda gerçekleşmektedir. Analiz edilmesi hedeflenen bir yapıya alıcısının bağlanması halinde, bu altın kaplamalı yüzeyde ölçülebilir bir işaret ortaya çıkmaktadır.

Belirli bir dalga boyuna sahip ışığın, yüzeyden içeriye tümüyle emileceği bir açıyla, düzeneğin altın kaplı yüzeyine geliş aygıt içerisinde tespit edilmektedir. Yüzey altına inen dalga, bir yandan da zayıflayarak taban plakası içerisinde ilerleyip plakanın üzerine bütünleşik olan mikro ölçekli bir sıvı akış kanalı içerisinden akıtılmakta olan sıvı içerisine işleyecektir. Düzenek yüzeyinin akış olan tarafındaki kırınım indisi, altın kaplamalı yüzeyden yansıyacak olan ışığın davranışını doğrudan etkiler. Düzeneğin akış olan tarafında gerçekleşecek olan herhangi bir bağlanma, sistemin kırınım indisini etkileyecektir. Bu yöntemle algılanıp, elektriksel sinyale dönüştürülecek optik değişimlerin sonraki aşamada bir mikrodenetleyici vasıtası ile işlenip değerlendirilmesi mümkün olabilecektir. Bu tümleşik algılayıcı sistem yardımıyla biyolojik etkileşimlerin yüksek bir hassasiyetle ölçülebilmesi mümkün kılınabilecektir.

Burada anlatılmakta olan tez projesinin üzerine kurulduğu optik yapı, özgünlük içeren bir kırınım ağı yapısına dayanmaktadır.

Günümüzde YPR algılayıcılarının geliştirilme aşamasındaki temel odak noktası, bu sensörlerin yüksek derecelerde minyatürizasyona uygun olarak kolay üretilebilir, ucuz ve yüksek hassasiyete sahip olarak tasarlanabilir olmaları konusudur [23, 24]. Bu tez çalışması kapsamında geleneksel uzak alan algılamaya dayalı olarak çalışan CMOS/CCD mekanizmalarını [25, 26] devre dışı bırakan düzlemsel bütünlük bir ışık algılayıcı taban kullanılmıştır. Algılama mekanizması, yüzey plazmon algılama yüzeyi olarak görev yapan ince metal kaplamalı kırınım ağı yapısı vasıtasıyla plazmonik olarak güçlendirilmiş ışık transmisyonunun görüntülenmesiyle çalışmaktadır. Işık algılayıcı tabanın kırınım ağı yapısının altına yerleştirilmesi sayesinde düzlemsel bir geometri sağlanmakta ve bu durum tüm sensör yapısının kompakt bir şekilde bütünlükteleştirilebiliyor olmasını sağlamaktadır. Diğer YPR sensörlerinde olduğu gibi rezonansa bağlı kaymalar sadece yüzeye çok yakın optik özelliklerin değişmesinden etkilenmektedir.

Elektromanyetik dalgaların plazmonlar vasıtasıyla ince metal filmlerde ilerleyişi (geçiş) literatürde [27] geniş bir şekilde çalışılmıştır. Alt-dalgaboylu delikler [28, 29], nano-delik dizileri [30, 31] ya da periyodik olarak dalgalandırılmış metal yüzeyler [32] vasıtasıyla gerçekleştirilen plazmonik olarak güçlendirilmiş transmisyon deneysel ve teorik olarak [33] araştırılmıştır. Nano-delik dizileri vasıtasıyla gerçekleşen plazmonik güçlendirme kabul edilebilir bir hassasiyet sunuyor görünmesine karşılık, bu durumun gerçekleşebilmesi için deliklerin büyük bir benzerlikle üretilebilir olması gerekmektedir. Plazmonik modların bu gibi alt-dalgaboyu açıklığa sahip dizili yapılarda ortaya çıkan yerleşik doğasına ve kırınım indis değişimlerinin sonucu ortaya çıkan hassasiyete rağmen, plazmonik algılayıcıların genel hassasiyeti, rezonansların ne kadar keskin olduğuna da bağlı bulunmaktadır. Yüzeylerin uzaysal yapılarının Fourier bileşenleri ile YPR arasındaki temel bağıntılar nedeniyle basit ve düşük maliyetli bir üretim yöntemi kullanarak delik dizileri vasıtasıyla keskin ve derin rezonanslar elde etmek oldukça güçtür. Halbuki tez konusu olan yaklaşımda ince gümüş tabakası kaplı yüzey içinden gerçekleşen plazmonik olarak güçlendirilmiş bir transmisyon elde etmek için bir kırınım ağı yapısı kullanılmaktadır. Bu bahsi geçen tasarımda delikli yapıların olmayışı, üretim aşamasını basitleştirmekte ve yapıların tekrar edilebilir olmasını sağlamaktadır.

Sinuzoidal yerine çift harmonikli olan bir kırınım ağı topografisinin [34, 35, 36] kullanılıyor olması sayesinde daha yüksek dereceli rezonans eşlenmesinin gözlemlenebilmesi bu anlatılmakta olan tasarımda mümkün olabilmektedir. Çift harmonikli grating yapısı, aynı zamanda ışık transmisyonunda güçlenme yaratan ikinci dereceden rezonansın daha iyi uyarılmasına [37, 38] imkan vermektedir. Ayrıca böylesi çoklu rezonanslar, birden fazla farklı dalgaboyunda ışığın sabit bir geliş açısında tutularak YPR'nin algılanabilmesine de imkan vermektedir.

Tez çalışmasına bahis konusu olan bu yapının düzlemsel ve bütünleşik olarak nanometrik ölçeklerde tasarlanabiliyor oluşu, tüm mekanizmanın yüksek oranlarda minyatürize edilerek küçük bir hacim içerisinde bütünleştirilebilmesine imkan tanımaktadır. Bu aşamada kullanılan özgün üretim teknikleri ve özgün kırınım ağı yapısı tasarımı ile ilgili olarak tez çalışması esnasında, RSC (Royal Society of Chemistry)'nin Lab On Chip dergisinde "Grating coupler integrated photodiodes for plasmon resonance based sensing; Lab Chip, 2011 Jan 21, 11(2):282-7" şeklinde bir çalışma yayınlanmış, bu özgün bütünleşik tasarım için TÜBİTAK destekli olmak üzere bir adet ulusal patent alınmıştır.

Yüksek katma değere sahip bilimsel bir cihaza dönüştürülme potansiyeline sahip olan bu tez konusunun çalışmaları kapsamında somut bir uygulama alanı belirlenerek sistemin pratikte çalışma yetkinliği de araştırılmıştır. Bu öncül ve örnek uygulama alanı çerçevesinde, DNA hibridizasyonu üzerinden tüberküloz teşhisi yapabilmeye yönelik olarak, geliştirilmiş olan bütünleşik algılayıcı sistemin gerçek zamanlı algılama kapasitesi araştırılmıştır.

1.3 Hipotez

Fotometrik ölçümün sınırlarını zorlayan YPR tekniğine dayalı çalışan sistemler daha önce de tasarlanmıştır. Bu konu, her geçen gün araştırmacılar tarafından artan bir ilgiyle geliştirilmeye çalışılmaktadır. Tasarımı hedeflenen ve çok disiplinli bir çalışma gerektirecek olan söz konusu bu tümleşik sistem, farklılaşmış ve gelişmiş bir takım tasarım yönleriyle var olan benzerlerine iyileştirici ve özgün katkılar yapmayı hedeflemektedir.

YPR tekniğinin gerçekleştirilmesi için gerekli olan plazmonların uyarılması işleminde, prizma, ağ, dalga kılavuzu ya da entegre optik düzeneklerinden faydalanılmaktadır. Bu çalışmada ise bahsi geçen algılayıcı sistemin tek kullanımlık ve atılabilir olarak tasarlanması hedeflendiğinden, üretim teknolojisi göz önünde bulundurularak, çok sayıda ve uygun maliyetlerle üretimi olanaklı kılacak olan kırınım ağı eşleme (grating-coupled) yöntemi seçilmiştir.

Özetlemek gerekirse, bu doktora tezi çalışması çerçevesinde gerçekleştirilmesi öngörülmüş olan ‘Yüzey Plazmon Rezonansına Dayalı Sensör Tasarımı’ projesi, teoride, bir ışık kaynağından yönlendirilen ışığın, ince bir metal tabaka üzerine serpilen moleküler aktörlerin sergilediği fiziksel etkileşimlerin algılanması amacıyla bahsedilen metal yüzeye eşlenmesi, bu eşlemenin doğuracağı optik veri değişimlerinin algılanıp, elektriksel sinyale dönüştürülüp, işlenmek ve değerlendirilmek suretiyle nihai hedef olarak, istenilen moleküler yapının algılanmasını amaçlamaktadır. Anılan proje, pratikte ise, tek kullanımlık atılabilir özelleştirilmiş algılayıcı yüzeyler kullanan oldukça küçük boyutlara sahip bir YPR sensör cihazının prototip tasarımına hizmet edecek olan somut adımların oluşturulmasını hedeflemektedir.

YÜZEY PLAZMON REZONANSINA DAYALI ALGILAMA

Sensör teknolojileri, özellikle son on yılda nanoteknoloji alanında sağlanan ilerlemelere paralel olarak büyük bir ivme kazanmıştır. Takip edilmesi istenen en temel fiziksel parametreler olan sıcaklık ve basınç ölçümü ile insanlığın günlük hayatına giren sensör teknolojileri, artık moleküler düzeyde araştırma ve görüntüleme yapma imkanını sağlayan nanoteknolojinin gelişimi ile çok farklı şekillerde çeşitlenmeye ve ölçüm kabiliyetini artırmaya başlamıştır. Bu çeşitlenmeyle birlikte artık sensörler tıp, eczacılık, çevre, gıda ve savunma endüstrilerinde artan bir ivmeyle kendisine uygulama alanları bulmaya başlamaktadır [39, 40].

Bu doktora tezi projesi, kullandığı opto-elektro-mekanik algılayıcı sistem tasarımı ve kullandığı özgün üretim ve uygulama teknikleriyle birlikte, giderek gelişmekte olan sensör teknolojilerinin biyosensörler alt grubunda kendisine uygulama alanı bulabilecek olan bir platform tasarımı üzerine odaklanmıştır.

Biyoalgılayıcı bir yüzey üzerine yerleştirilen örneklerin bir çevirici vasıtasıyla elektrik sinyale dönüştürülmesi prensibine dayalı olan biyosensörlerin [41] tarihi, enzim elektrotlarının geliştirilme çalışmaları [42] ile başlamıştır. Temel olarak biyosensörler kullandıkları çeviricilerin çalışma prensipleri üzerinden sınıflandırılmaktadırlar. Bu sınıflandırmalar en genel anlamda elektrokimyasal [43], piezoelektriksel [44], ısı [45] ve optik [46] olmak üzere isimlendirilmektedir. Her bir gruptaki biyosensörler ise uygulama alanı ve kullanılan tekniklere göre kendi içerisinde ayrıca çeşitlilik göstermektedir. Elektrokimyasal biyosensörlerin taşınabilir olup hastalık teşhisine

yönelik [47], grafen temelli ölçüm yapabilen [48], altın nano-parçacıklarına dayalı olarak çalışan [49] tipleri; piezoelektrik biyosensörlerin quartz kristal [50], akustik dalga [51], immunosensör [52] uygulamaları; ısı biyosensörlerin enzim aktivitelerini saptayabilen [53, 54], klinik [55], proses [56] ve çevresel [57] monitörleme yapabilen örnekleri üzerine literatürde çok sayıda çalışmalar yapılmıştır.

Elektrokimyasal biyosensörlerde kullanılan çeviricilerin potansiyometrik olarak çalışan örnekleri arasında iyon seçici alan etkili transistörler, iyon seçici elektrotlar; amperometrik olarak çalışanlarına ise elektronik burunlar ve katı elektrolit gaz sensörleri verilebilir.

Piezoelektrik çeviriciler kullanan biyosensörler ise kütle, yoğunluk, viskozite ve akustik eşleme durumlarına göre hassasiyet gösterme özelliklerini taşıyan kuartz kristal ve yüzey akustik dalga algılayıcıları olarak örneklendirilebilir.

Isıl çeviricileri devreye alan biyosensörler ise sıcaklıkta oluşan farklılıkları algılayabilen kalorimetrik sensörler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Algılayıcı yüzeylerinde gerçekleşen optik değişimlere karşı yüksek hassasiyet gösteren optik biyosensörler ise kütle veya derişime bağlı olarak ışık şiddeti ve/veya polarizasyonundaki değişimleri ölçebilen, ayrıca boyar maddeli moleküller kullanılarak etiketlemeli okumalar yapılabilen çevirici arabirimler kullanmaktadır. Bu tip optik biyosensörlere limünesans, absorbans ve floresansa dayalı çalışan algılayıcılar örnek olarak verilebilir. Bu tez çalışması kapsamında herhangi bir etiketlemeye ihtiyaç duymayan optik biyoalgılayıcılar [58] arasında yer alan YPR algılayıcıları üzerine yeni bir yaklaşım oluşturulmaya çalışılmıştır.

Yakın bir gelecekte vazgeçilmez bir ihtiyaç haline dönüşeceği öngörülen kişisel sağlık takibi kavramı ve bilinci, çeşitli hastalıkların tedavisinde erken teşhisin öneminin açıkça biliniyor oluşu, patojenlere ve tarımsal ilaç artıkları pestisitlere bağlı gıda zehirlenmelerinin yaşanması, biyoterörizm tehlikesi gibi nedenlere bağlı olarak gelişmekte olan toplumsal kaygılar ve küresel bilinç sonucunda biyosensörlere olan talebin ivmelenerek büyüyeceği öngörülmektedir. Bu doktora çalışması dahilinde bahsi geçen bu öngörüler göz önünde bulundurularak, yakın bir gelecekte oluşacak olan beklenti ve ihtiyaçları karşılayabilecek [40], taşınabilir, hızlı ve güvenilir sonuçlar

üretebilen ve kolayca herkes tarafından erişilebilir (uygun maliyetli) ve uzmanlık gerektirmeden kolaylıkla kullanılabilir algılayıcı sistemlerin araştırılarak geliştirilmesi ve örnek bir uygulama eşliğinde sergilenmesi hedeflenmiştir.

YPR biyosensörleri sayesinde biyomoleküler etkileşimlerin etiketlemesiz (yani herhangi bir ekstra boyar madde kullanımına gerek kalmadan), gerçek zamanlı, niceliksel, hızlı, güvenilir, uygun maliyetli, çok parametrelili ve yüksek verimli şekilde ölçülebilmeleri mümkün olabilecektir [59].

Günümüzde bu amaca yönelik olarak dünyanın çeşitli araştırma merkezlerinde bilim insanları, artan ve gelişen yeni ihtiyaçlar ile biyo-algılama teknolojisindeki yeni eğilimler gözönünde bulundurularak,

- Sahada ve ihtiyaç mahallinde kullanıma uygun,
- Güvenilir ve klasik metotlara kıyasla oldukça hızlı sonuçlar üretebilen,
- Nano ölçekli dizileme tekniği kullanılarak aynı anda pek çok parametreyi ölçebilen,
- Atılabilir ucuzlukta uygun maliyetli (algılayıcı özel yüzeylerin atılabilir oluşu),
- Özel uzmanlığı olmayan insanlar tarafından bile kullanılabilir basitlikte

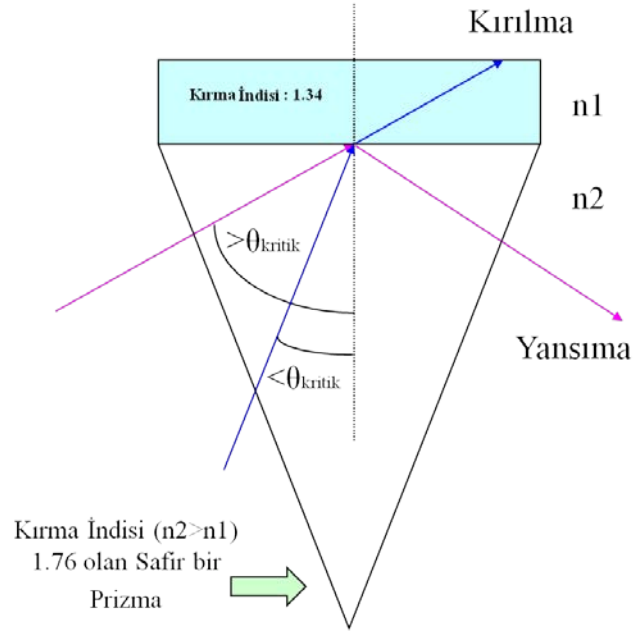
(biyo) moleküler algılama ve analiz platformlarının en yakın zamanda hayata geçirilmesi amacıyla titizlikle ve hararetle çalışmalar yürütmektedirler.

2.1 YPR'nin Çalışma Prensipleri

YPR Kuantum Mekanik bir olaydır:

Işığın yüksek kırma katsayısına sahip optik bir ortamdan (mesela kırınım indisi 1.76 olan safir bir prizma üzerinden) prizmanın temasta bulunduğu alçak kırma katsayısına sahip bir ortama yönlendirildiğinde neler olduğu Snell'in yasası ile açıklanmaktadır. "Kritik Aç" dan daha küçük bir açıyla gelen ışınlar, prizma yüzeyine doğru eğilecek bir şekilde kırılarak prizmadan çıkacaktır. "Kritik Aç" dan daha büyük bir açıyla gelen ışınlar ise prizma tarafından içeriden tamamen geriye yansıtılacaklardır (Şekil 2.1).

$$\frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2} = \frac{n_2}{n_1} \quad \text{Snell Yasası} \quad (2.1)$$



Şekil 2. 1 YPR'nin temel prensibi – Snell Yasası

“Kritik Açı” dan büyük bir açıyla gelerek prizma içerisinden tamamen geriye yansıyan fotonlar, arayüzeyde bir elektrik alan yaratır. Bu olayın temelinde, prizmadan geçerek arayüzeyden geri yansıyan bu ışınların prizmadan dışarı çıkarak arayüzeye geçememesi yatmaktadır.

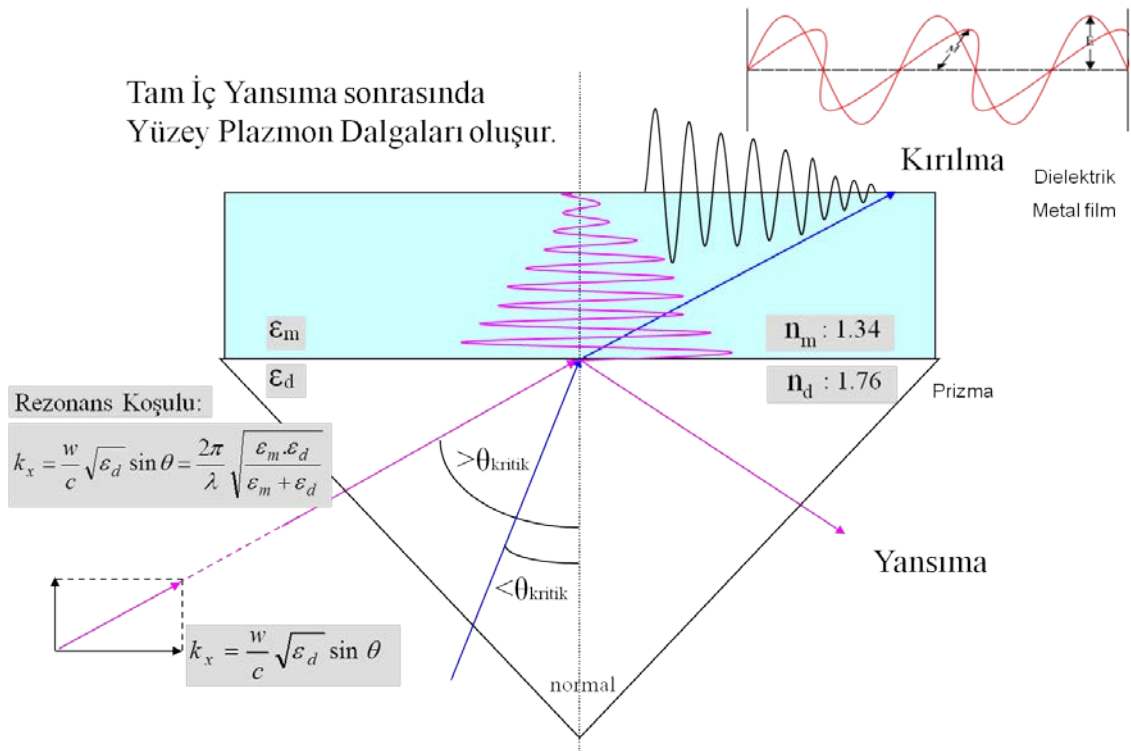
Bu durumda yansıtıcı yüzeyden geçerek içeriye doğru sönümlenerek ilerleyen bir elektrik alandan bahsetmek mümkündür. Yüzeyden gerçekleşen tam iç geri yansımalar sonrasında oluşan bu alan, bir elektromanyetik dalga'nın bilinen genel karakteristiklerini sergileyerek salınım yapmaktadır.

Yüzey Plazmonları, ters işaretli dielektrik sabitlerine sahip iki farklı ortamın (mesela metal ile dielektrik) arayüzeyindeki yük yoğunluğu salınımlarından kaynaklanır. Yük yoğunluğu dalgası ile birlikte ortaya çıkan elektromanyetik dalga, arayüzeyde en büyük değerine ulaşır. Ve arayüzeyden uzaklaştıkça her iki ortamın da içlerine doğru üstel bir şekilde sönümlenir. Oluşan bu yüzey dalgaları TM karakterlidir. Bu kaybolup giden dalga yapısına literatürde “Evanesans Dalga” denilmektedir.

Yük yoğunluğu salınımlarının gerçekleşme koşulu, birbirleri arasında arayüzeyi olan iki farklı ortamın ters işaretli dielektrik sabitlerine sahip olmasıdır. Yüzey Plazmonlarının ortaya çıkması için ise (rezonans durumu formülü gereğince) $\epsilon(\text{metal}) < -\epsilon(\text{dielektrik prizma})$ koşulu sağlanmalıdır (Şekil 2.2).

Işığın büyük bir kısmı dielektrikte ilerlemesine rağmen, metal olan yüzeyin yüksek soğurma katsayısından dolayı fazla ilerleyemez (Şekil 2.2). Bu penetrasyon gelen ışığın dalgaboyuna da bağlı olmak koşuluyla birkaç on nanometreyi geçmez. Mesela 850 nm dalgaboyunda gelen ışığın penetrasyonu altın içerisinde 24 nm [60], gümüş içerisinde 57 nm [61] olarak ölçülmüştür.

Bu rezonans açısı, metal yüzeyine ilştirilecek olan dielektrik ortamın kırınım indisindeki değişikliklere “yüksek hassasiyet” ile bağlıdır. Bu gerçekten faydalanılarak YPR spektroskopisinde yüzeyde meydana gelen değişiklikler, rezonans açısındaki kaymalar üzerinden tespit edilmeye çalışılmaktadır.



Şekil 2. 2 Yüzey Plazmon dalgalarının oluşumu ve rezonans anı

2.2 YPR'ye dayalı Algılama ve Değerlendirme Prensipleri

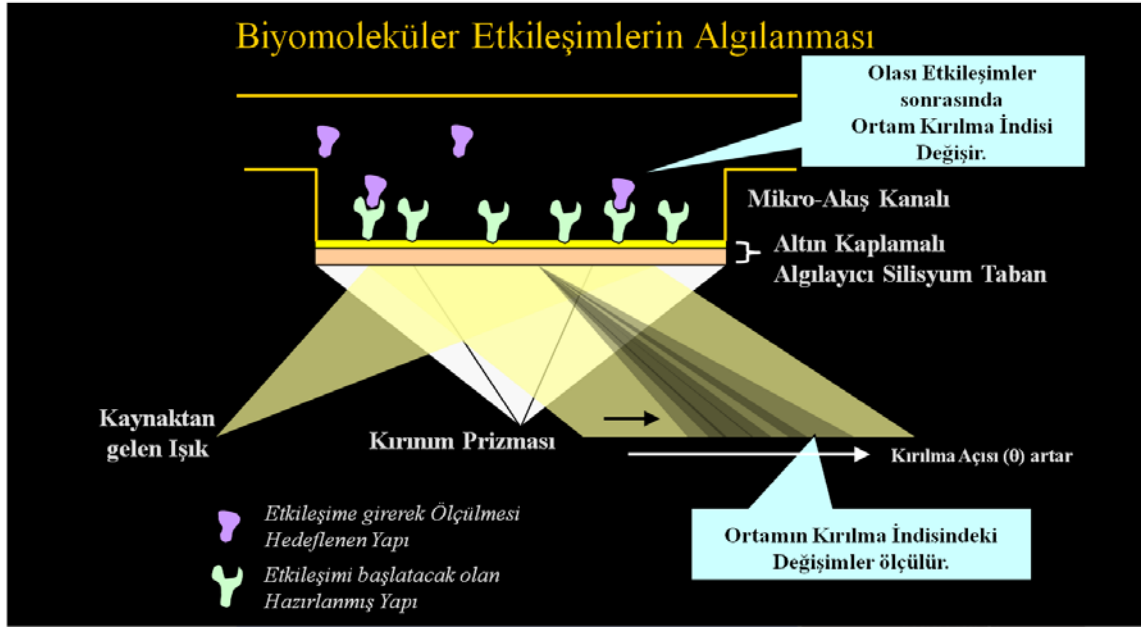
YPR spektroskopisinde, rezonansın gerçekleşebileceği uygun özellikte ince bir metal film, prizma ile biyomoleküler etkileşimlerin sergileneceği sıvı bölüm arasına eklenmektedir. Bu ince metal tabaka içerisindeki serbest elektronlar rezonatör olarak davranabilmektedir. Rezonans için gerekli olan enerjiyi, tamamen iç yansımaya uğrayan fotonlar tarafından yaratılan evanesans dalgası taşımaktadır.

Gelen ışığın dalga boyu, aydınlatma açısı ve prizma, metal ve sıvı ortamın kırınım indisleri tarafından belirlenen belirli bir takım koşullar sağlandığında, metal içerisindeki serbest elektronların plazma salınımları ile tamamen iç yansımaya uğramış fotonların oluşturduğu evanesans dalgası arasında eşleşme/rezonans hali görülür (Şekil 2.2). Bu eşleşme gelen ışığın momentumunun (mV) plazmanın elektromanyetik alanının momentumuna eşit olduğu anda gerçekleşir. Bu eşleşme anında fotonlar soğurularak yüzey plazmonlarına dönüşür. Yüzeye düşen fotonlar, eşleşme sonrası yüzeyden geri yansımaları için yansımakta olan ışık içerisinde “gölge” oluşmaktadır.

Normal şartlarda yüzey plazmonlarının (mV) 'leri ışıktan daha büyüktür. Bu momentum uyumsuzluğu düz bir yüzeydeki plazmonlarla ışığın eşleşmesine engel olmaktadır. Aradaki bu momentum farkını kaldırıp ışıkla plazmonların momentumlarını eşitlemek için farklı yöntemler kullanılır. En yaygın kullanılan metod, prizma yardımıyla ışığın plazmonlara eşleşmesidir.

Eşleşmenin sağlandığı momentum, ışığın metal yüzeyine geliş açısı taranarak bulunur. Belirli bir açıda gerçekleşen momentum eşleşmesi ile birlikte plazmonlara eşlenen ışığın geri yansımada ani bir düşüş olur. Bu andaki açıya “rezonans açısı” denilmektedir (Şekil 2.2 teta açısı).

YPR sensörlerinde algılanan fiziksel nicelik, yüzey plazmonlarının etkilendiği ortamların kırınım indisidir. Örneğin ince metal tabakası ile moleküler etkileşimlerin gerçekleşeceği sıvı ortam arasındaki arayüzeyde oluşacak kütle değişimleri, metal tabakası civarındaki yerel kırınım indisinde değişime neden olacaktır.



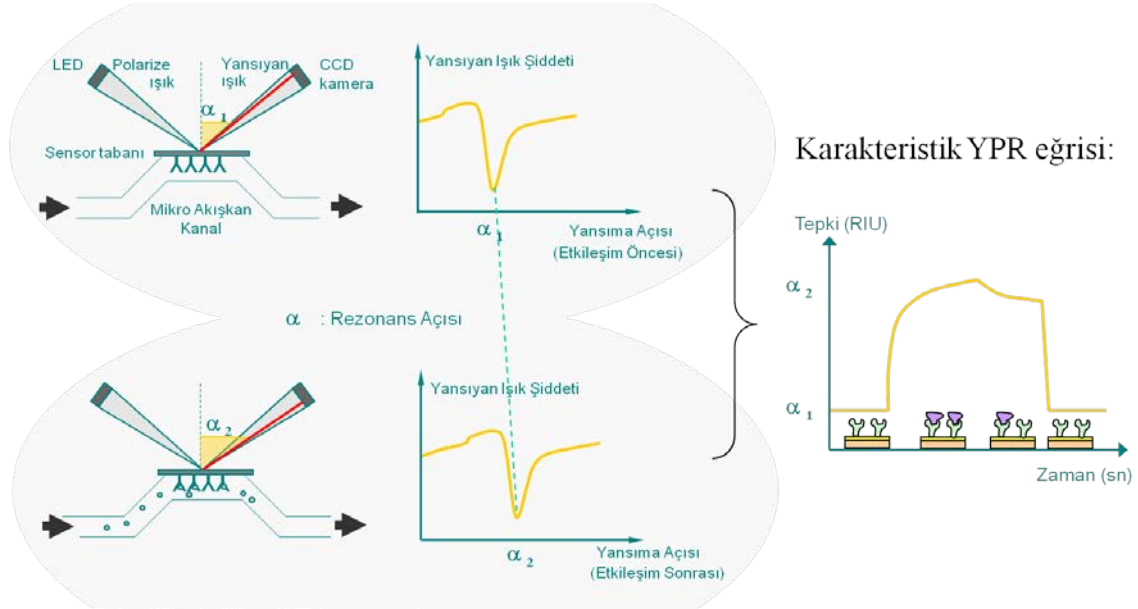
Şekil 2. 3 Yüzey Plazmonlarına dayalı algılama prensibi

Bu değişim eşlenme/rezonans açısını değiştirecektir. Böylelikle ölçülebilecek fiziksel nicelik değişimleri ortaya çıkmaktadır. Ölçülmüş bir örnekle somutlaştırmak gerekirse; akışkan sıvı sistem fizyolojik tuzlu bir çözelti olsun. “Gölge” ya da “YPR minimumu” denilen geri yansımadaki anlık düşüş 66 derece civarındaki bir rezonans açısına ulaşıldığında gerçekleşmektedir. Altın/akışkan arayüze protein eklendiği zaman, eşlenmenin gerçekleştiği açı büyüyerek 66.6 dereceye kaymaktadır.

İnce bir altın tabakasının eklenmesi gelen ışık için bir “rezonatör” yaratmaktadır. İnce metal tabaka üzerinde soğurulan materyaller rezonans koşullarını etkilemektedir. Protein, şeker ve DNA gibi moleküllerin kütle yoğunlukları ve rezonans enerjisi arasında tanımlanabilir bir ilişki bulunmaktadır [62]. Rezonans birimleriyle ifade edilen YPR sinyali, bu nedenle algılayıcı yonga yüzeyindeki kütle yoğunluğunun bir ölçeğidir. Bu, moleküler bağlanma ve ayrılmaların gözlemlenebileceği ve böylece denge sabitleri gibi oransal sabitlerin de hesaplanabileceği anlamına gelmektedir.

Rezonans, kırılma endeksine ya da altın tabakanın akışkanlı tarafıyla temasta bulunan bir kütleye bağlı bir açıda vuku bulur. Yüzeye daha fazla kütle eklendikçe, örneğin yüzeyde hareketsizleştirilmiş antikorlara bağlanan antijen miktarı arttıkça, rezonans açısı artarak oluşan “gölge”de kaymalar meydana gelecektir (Şekil 2.3).

Rezonansın gerçekleşmesi için artan bir açıyla gelmesi gereken ışık, yansıma sonrasında daha geniş bir alanı aydınlatacak ve bu aydınlatma alanı içerisinde azalan yansımalarla bağlı olarak oluşan “gölge” genişliği de artacaktır.



Şekil 2. 4 YPR'nin Değerleme Prensipleri [1, 2, 7]

Işığın kırılarak plazmonlarla eşlenebilir hale getirilmesi için kullanılan kırınım ağı yapılarının kırınım seviyelerinin hesaplanmasında faydalanılmak üzere, bu tez çalışmasında modifiye edilerek hızlandırılmış olan bir integral alma algoritmasından [12-17] ve bu yöntemi kullanarak kırınım ağı yapılarını simüle eden Pcgrate [18] isimli örnek bir programdan faydalanılmıştır.

Eşlemenin sağlanacağı momentum, ışığın metal yüzeyine geliş açısı taranarak bulunmakta ve belirli bir açıda gerçekleşen momentum uyuşmasıyla beraber plazmona eşlenen ışığın geri yansımada ani bir düşüş yaşanmaktadır. Bu düşüş algılanan ışık şiddeti miktarında bir 'dip' eğrisine neden olmakta (Şekil 2.4) ve bu dip anının olduğu açı (Şekil 2.4'teki alfa açısı) rezonans açısı olarak karşımıza çıkmaktadır.

YPR sensörlerinde algılanan fiziksel özellik, yüzey plazmonlarının etkilendiği kırınım indisi olmaktadır. Şekil 2.4'te görüldüğü üzere 'rezonans civarındaki ışık şiddetinin ölçülmesi' ile etkileşim öncesi ve sonrasında ortam indisinin değişiminin yarattığı kayma miktarı, zamana bağlı olarak takip edildiği takdirde karakteristik bir YPR eğrisi oluşmaktadır. Bu grafiğin analizi vasıtasıyla sıvı ortam içerisinde gerçekleşmekte olan

moleküler bağlanmaların etkileşim öncesi, esnası ve sonrasındaki durumları hakkında niceliksel ve niteliksel çıkarımlar yapmak mümkün olmaktadır.

2.3 Prizma Yerine Kırınım Ağı

Kırınım Ağları Teorisi:

Çeşitli dalgaboylarındaki ışığı ayırarak bu ayrılan dalgaboylarının daha sonra faydanılabilir ya da işlenebilir hale getirilmesini sağlayan kırınım ağları pek çok optik sistemde kullanılmaktadır. Pek çok farklı şekilleriyle karşımıza çıkabilmesine rağmen, bir kırınım ağı, çoğunlukla üzerine düşürülecek olan ışığın, ortalama dalgaboyuna yakın aralıkları olan, kabartmalı ya da oluklu yineleyen serilerden meydana gelmektedir.

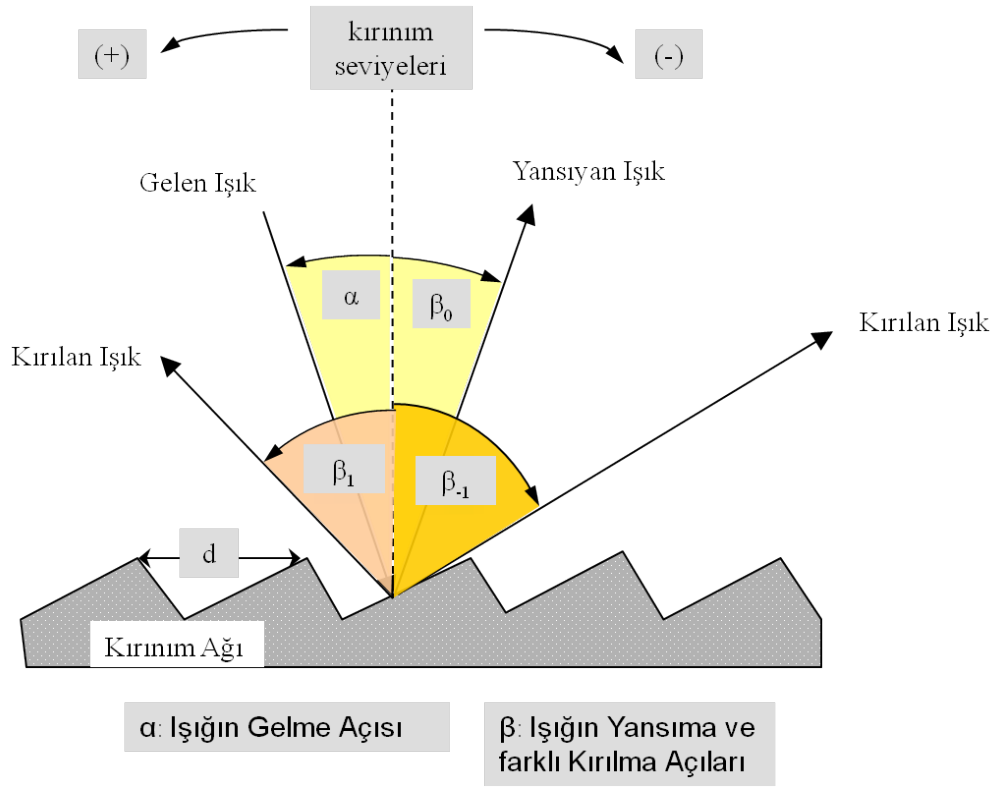
Kırınım Ağı Eşitliği:

Monokromatik bir ışık, kırınım ağı üzerine düştüğünde kırılarak ayrı yönler dağılır. Kırınım ağı yapısı içerisindeki her bir oluğu, kırılan ışık ışınlarının, çok küçük ve girintili şekle sahip birer kaynağı olarak düşünebiliriz (Şekil 2.5). Herbir oluk tarafından ayrı yönlerde kırılan ışık, daha sonra birleşerek kırılmış dalgalar kümesi oluşturur (Şekil 2.6).

Bir kırınım ağının işe yararlılığı, şu koşulda ortaya çıkmaktadır: Oluklar arasında belirli bir “d” aralığı varken (Şekil 2.5), herbir oluklu yüzeyden kırılarak ilerleyen ışığın, herhangi diğer bir oluklu yüzeyden kırılan ışıkla aynı fazda bulunacağı belirli bir açılar kümesi var ise, neticede “yapıcı girişim” meydana gelecektir.

Kural olarak gelme ve kırılma açıları, kırınım ağı normalinden ışına doğru okunmaktadır.

Açı, normale göre, gelen ışıkla, yansıyan ışığın aynı tarafta olması durumunda (+), tersi durumda ise (-) ile tanımlanır (Şekil 2.5).



Şekil 2. 5 Kırınım Ağı Prensibi [1, 2, 7]

Kırınım Ağı Eşitliği (devamı):

Birbirine komşu olan oluklardan kırılan ışınlar arasındaki geometrik yol, Şekil 2.6'da görüldüğü gibi

$$d \sin \alpha + d \sin \beta \quad [1, 2, 7] \quad (2.1)$$

kadardır. [$\beta < 0$ olduğundan, $d \sin \beta$ terimi eksi işaretlidir]. Yapıcı girişim prensibi gereğince, sadece bu farkın dalgaboyuna ya da dalgaboyunun birkaç integral (tamamlayıcı) çarpanına eşit olması durumunda, komşu oluklardan yansıyan ışınlar, aynı fazda olacaktır. Bu koşula uymayan diğer tüm açılarda oluk yüzeylerinden çıkan dalgacıklar bozucu girişime maruz kalacaktır.

Kırınım Seviyelerinin Varlığı:

Aynasal yansıma ($m = 0$) her zaman olasıdır; yani sıfır seviyesi her zaman var olmaktadır (bu basit olarak $\beta = -\alpha$ olmasını gerektirir). Pek çok durumda, kırınım eşitliği, λ dalga boylu ışığın sıfır seviyesinden başka, hem negatif hem pozitif seviyelerde de kırılmasını mümkün kılar.

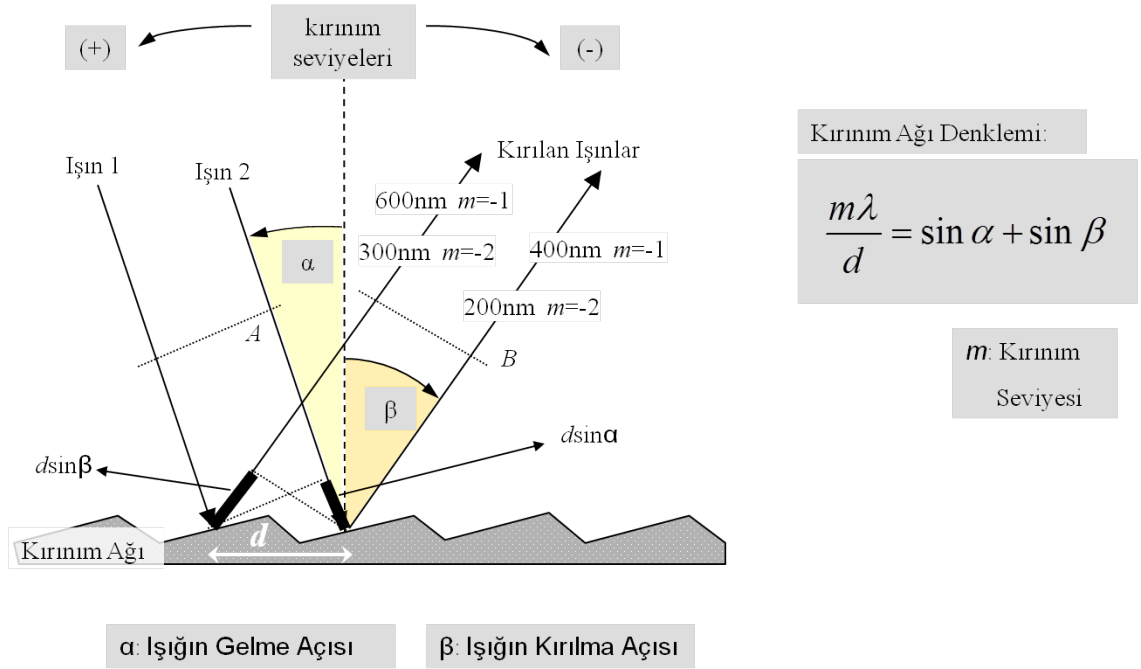
Kırılmış Tayfın Üst Üste Binmesi Durumu:

Çok seviyeli kırınım davranışının en problematik konusu, ardışık tayfın üst üste binmesidir. Kırınım eşitliğine

$$\frac{m\lambda}{d} = \sin\alpha + \sin\beta \quad [1, 2, 7] \quad (2.2)$$

bakılırsa, λ dalga boyu bir ışığın β açısı boyunca kırınımına, bu ışığın tamamlayıcı (integral) kesirleri (parçaları) olan $\lambda/2$, $\lambda/3$, vb. dalga boylarındaki kırınimleri da eşlik edecektir. Bu şu anlama gelmektedir: λ dalga boyu ışığın $m = 1$ seviyesindeki kırınımı, $\lambda/2$ dalga boyuyla $m = 2$ seviyesinde kırınımına uğrayan bir ışığıyla çakışacaktır. Örneğin birinci kırınım seviyesindeki (600 nm) kırmızı ışık, ikinci kırınım seviyesinde olan (300 nm) ultraviyole ışık ile üst üste binecektir (Şekil 2.6).

Her iki dalga boyuna da hassasiyet gösteren bir algılayıcı, aynı anda, her ikisini görecektir. Alınan spektroskopik verilerde bir belirsizliğe yol açacak olan, dalga boylarındaki bu üst üste biniş, kırınım eşitliğinin özünde bulunmaktadır. Algılayıcılar, hassasiyet menzilleri içerisinde, üzerlerine düşen ışığın farklı dalga boylarını seçemeyeceğinden, bu durumun, seviye sınıflandırma denilen uygun fitreleme ile bertaraf edilmesi gerekmektedir.



Şekil 2. 6 Kırınım Ağı Prensipleri – kırınım seviyeleri [1, 2, 7]

Enerji Dağılımı (Kırınım Verimliliği):

Kırınım ağı tarafından çeşitli seviyelerde kırılacak olan belirli bir dalga boyundaki ışığın enerjisinin dağılımı, bir takım parametrelere bağlıdır. Bunlar:

- Gelen ışığın güç ve polarizasyonu,
- Gelme ve kırılma açıları,
- Kırınım ağının kaplandığı metal filmin karmaşık kırınım endeksi,
- Olukların aralığı.

Kırınım Ağının veriminin tam olarak işlenmesi için, elektromanyetizma teorisinin (yani Maxwell denklemlerinin) oluklu yüzeylere uyarlanmış vektörel formulasyonundan faydalanılmaktadır. Üzerinde detaylı bir şekilde çalışılmış olan bu teori, kolay bir şekilde temin etmemekle birlikte, belirli bir takım kurallar çerçevesinde yaklaşık tahminlerde bulunabilmeyi mümkün kılmaktadır.

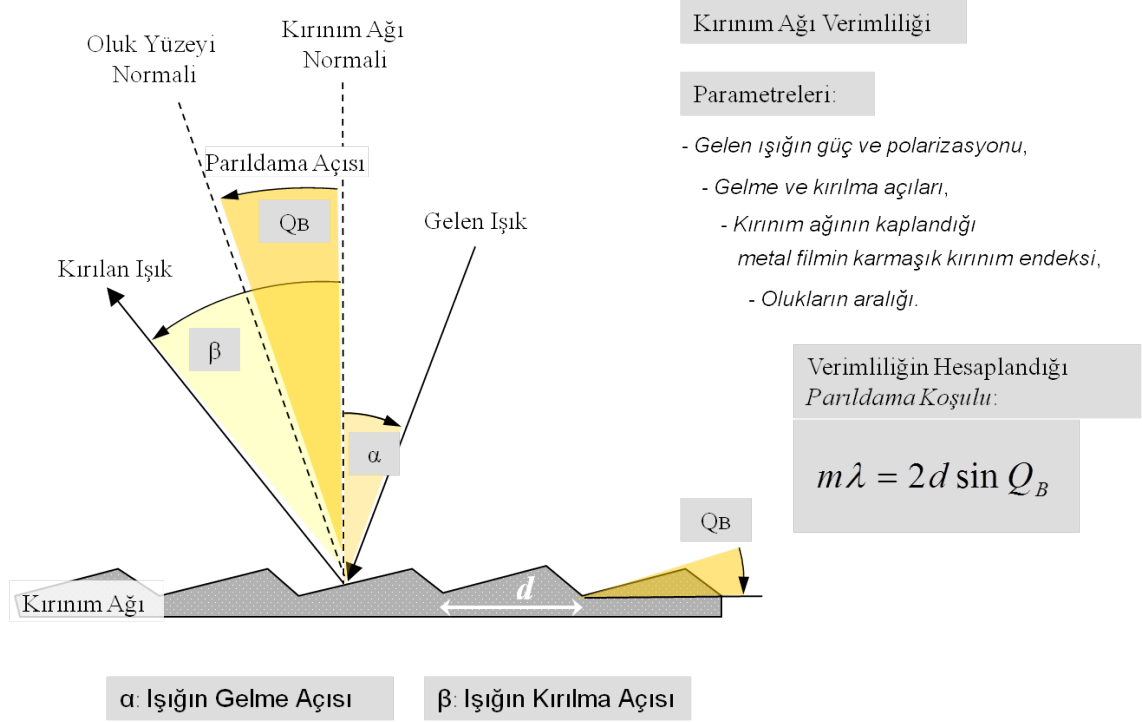
(Yansıtıcı kırınım ağları için) Kırınım ağı verimliliğinin hesaplanmasında en yaygın olarak kullanılan temel kural, parıldama koşulunun sağlandığı

$$m\lambda = 2d \sin Q_B \quad [1, 2, 7] \quad (2.3)$$

durumudur. Buradaki Q_B açısı, kırınım ağının parıldama açısı olarak adlandırılmaktadır ve oluğun yüzeyi ile kırınım ağının düzlemi arasındaki açıdır.

Parıldama Koşulu:

Gelme açısı α ile kırılma açısı β 'nin , Şekil 2.7'de parıldama koşulu için Q_B oluk yüzü ile ilişkisi gösterilmiştir. KN kırınım ağının normali, ON ise oluk yüzünün normali olmak üzere FN'nin gelen ışıkla kırılan ışık arasındaki açının açıortayı olduğu durumda, parıldama koşulu sağlanmaktadır.

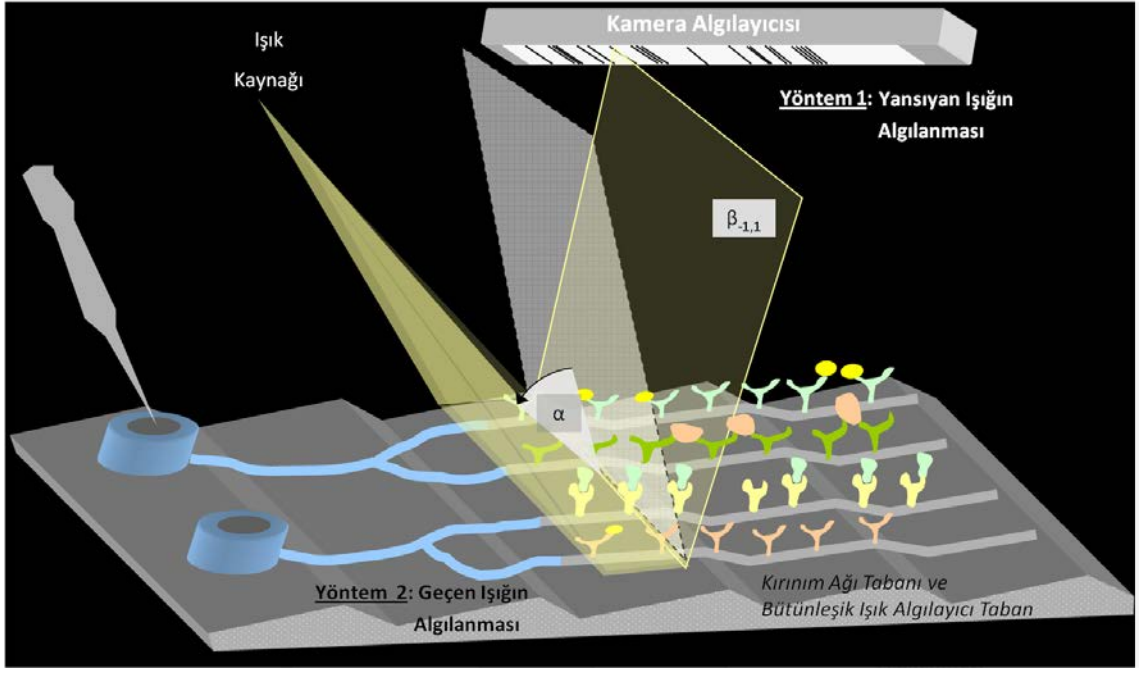


Şekil 2. 7 Kırınım Ağı Prensibi – parıldama açısı [1, 2, 7]

Kırınım Ağına dayalı algılama tekniği:

Altın kaplamalı yüzey belirli açılar aralığında aydınlatılır. Bu açılar bir CCD kamera ya da fotodiyot dizisi tarafından sürekli olarak görüntülenir (Şekil 2.8). Görüntü analizi sonrasında hangi açıda minimum yansıma olduğu rezonans açısı tespit edilir. Bu algılanan veri, bir yandan da sürekli olarak gerekli enerji dağılımı (kırınım ağı verimliliği) yapılmak üzere ve değerlendirilmek üzere bir mikro-denetleyiciye gönderilir.

Yüzeye eklenen kütle yoğunluğu artıkça rezonans açısı da büyümektedir. Bu açıdaki değişiklikler gerçek zamanlı olarak kaydedilip görüntülenerek ve işlenerek, yüzeyde gerçekleşen biyo-moleküler etkileşimler algılanabilmektedir.



Şekil 2. 8 Kırınım Ağına dayalı algılama yöntemi

YPR sensörlerinde incelenmesi önemli bir karakteristiksel durum, ışığın enerjisinin plazmonlara eşlenmesi aşamasından kullanılması hedeflenen ‘Kırınım Ağı’ yapısının verimliliğinin araştırılmasıdır.

Kırınım Seviyelerindeki karmaşık ve zaman alıcı enerji hesaplamalarında kullanılan integral algoritmalarının modifiye edilmesiyle ortaya çıkartılmış olan MIM (Modifiye Integral Metodu)’nu kullanan ve çok kısa sürelerde klasik güçlü hesaplamalara yakın sonuçlar çıkartabilen algoritmaları olan ‘PC Grate’ [18] programı yardımıyla bu kırınım ağı yapıları simülasyon yöntemiyle optimize edilebilmektedir.

Literatürde, ‘Kırınım Ağı’nın tasarım yapısına bağlı olarak üreteceği enerji eşleme verimlilikleri, MIM algoritmaları [13] PCgrate ile hesaplanmakta ve aynı ölçümler bir de laboratuvar koşullarında gerçek profillerin AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) ile ölçülmesinden çıkan sonuçlar karşılaştırılarak ortaya çıkarılabilmektedir.

Böylece tasarlanacak kırınım ağının en ideal fiziksel parametrelerinin (kullanılan ışığın dalgaboyu ve gelme açısına bağlı olarak) neler olabileceği ortaya çıkarılabilmektedir.

BÖLÜM 3

KIRINIM AĞI YAPISININ HAZIRLANMASI

Buraya kadar olan bölümlerde bahsi geçen biyosensörün yapacağı hassas optik algılamalarda kullanılması hedeflenen alternatif kırınım ağı yapıları ele alınmıştır. YPR anının net bir şekilde gözlemlenebileceği en ideal kırınım ağı yapısına ulaşmak için, muhtemel yapıların karakterizasyonu ve optimizasyonu üzerinde çalışılmış ve bunlara ilişkin sonuçlar deneysel, aletsel ve simulasyona dayalı değerlemeler sonrasında ortaya konulmuştur.

3.1 Kırınım Ağı Yapısı

Yüzey plazmonlarının gelen fotonlarla eşlenip rezonansa geçebilmeleri için farklı yöntemler kullanılmaktadır. En yaygın çalışılmış olan prizma eşlemeli YPR'nin alternatifi olarak bu çalışmada eşleme amaçlı olarak kırınım ağı yapısı kullanılmaktadır.

Bir metalle dielektrik materyalin düzgün ve düzlemsel olan arayüzeyinde oluşan Yüzey Plazmon Polariton (YPP) dalga vektörü, n_1 dielektrik ortamın karmaşık kırma indisi ve n_2 metal tabakanın karmaşık kırma indisi, w açısal frekans, c ışık hızı olmak üzere;

$$k_{YPP} = \frac{w}{c} \sqrt{\frac{n_1^2 n_2^2}{n_1^2 + n_2^2}} \quad [1, 2, 7] \quad (3.1)$$

formülü ile tanımlanmaktadır. Kullanılacak olan bir prizma yardımıyla ışığı, YPP moduna eşlemek mümkündür. Ancak bununla beraber, biyomoleküler algılama uygulamalarında plazmonların optimum seviyede uyarılabilmeleri için kullanılan

materyallerin, uyarılma dalgaboyunun ve geometrik konfigürasyonun kritik önemi bulunmaktadır.

Şekil 3.1’de görüldüğü gibi sinüzoidal bir yüzey topografisinin bulunması halinde eşlenme durumu, kırınım ağının paterni ile modifiye edilebilmekte ve belirli bir açıda yüzeye inen düzlemsel bir dalga, yüzey plazmonlarına eşlenerek rezonans durumu oluşturulabilmektedir.



Şekil 3.1 Örnek bir kırınım ağının AFM yüzey topografisi ve SEM görüntüsü

Kırınım ağının eşleme amaçlı kullanılmasıyla (prizmalı eşleme yöntemine alternatif olarak) kırınım ağı periyodu denilen yeni bir parametre karşımıza çıkmaktadır ki; bu parametre, eşlenme şartını kolaylaştırmakta ve diğer parametrelerin seçiminde esneklik sağlamaktadır. Bu durumda rezonans durumuna geçiren eşlenme açısı, Λ kırınım ağının periyodu ve m pozitif bir tam sayı olmak üzere;

$$\Theta_R = \arcsin \left[\operatorname{Re} \left(-\sqrt{\frac{n_1^2 n_2^2}{n_1^2 + n_2^2}} \right) \pm m \frac{\lambda}{n_1 \Lambda} \right] \quad [1, 2, 7] \quad (3.2)$$

ile ifade edilmektedir. Rezonans eşlenmesi, sadece kırınım ağı yönünün ışığın gelme düzlemine dik olduğu TM polarizasyonunda gerçekleşmektedir.

3.2 Kırınım Ağı Yapısının Modifikasyonu

Kırınım Ağı yapısı olarak, CD ve DVD gibi optik depolama ortamlarının kırınım ağı plazmonik deneylerde kullanıldığı bilinmektedir [63, 64]. Bu veri disklerinin ve bunlara ek olarak bluray veri depolama ortamının, uygulanması basit bir takım fiziksel ve kimyasal işlemler sonrasında, kırınım ağı eşlemeli plazmon rezonansının uyarılması için nasıl en uygun şekilde modifikasyona tabi tutulması gerektiği üzerine UNAM’da birtakım çalışmalar yapılmıştır [65].

Piyasada kolaylıkla bulunabilen optik veri depolama disklerinde üzerleri dış etkilere karşı koruma amaçlı olarak kaplanmış, dalgalı bir topografik yapı bulunmaktadır. Bu yüzeyleri basit kimyasal işlemlere tabi tutarak keskin ve derin bir YPR piki veren kırınım ağı yapıları elde etmek mümkündür.

Tez çalışmasının bu aşamasında YPR anının en net bir şekilde gözlenebilmesini mümkün kılacak yeni modifikasyonlar yeni optik disk türleri üzerinde denenmiş ve elde edilen kırınım ağı yapıları karakterize edilmeye çalışılmıştır.

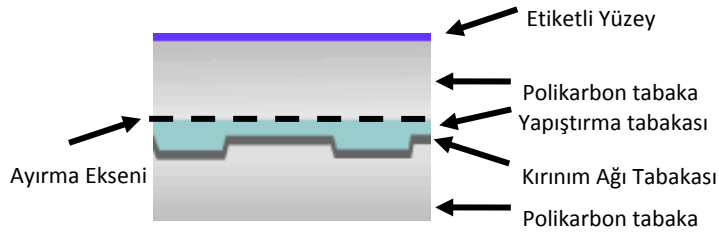
Kırınım ağı periyodu, Λ , CD-R disklerde 1600 nm, DVD-R disklerde 740 nm ve Blu-Ray disklerde 320 nm olarak ölçülmüştür (Çizelge 3.1). Tezin konusu olan biyomoleküler algılama için 630-650 nm aralığında görülebilir kırmızı ışık kullanılacağı için 740 nm periyodu olan DVD yapılarının kullanılması uygun düşmektedir. Bu nedenle bu çalışma çerçevesinde öncelikli olarak DVD disklerindeki yapılar ve bunların optimizasyonu üzerinde durulmuştur.

3.2.1 Disk Üzerindeki Yapının Ortaya Çıkartılması

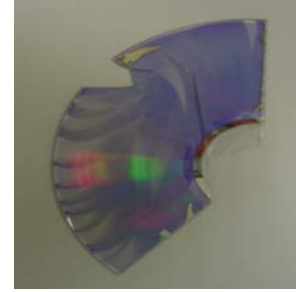
DVD diskler, Şekil 3.2’de verildiği üzere, üst üste oturtulmuş iki ince polikarbon tabakadan oluşmaktadır. DVD yüzeyinde oluşturulan küçük bir çentik yardımıyla bu iki tabaka dikkatlice birbirinden ayrıldığı zaman, bir tarafta üzerinde etiketlemenin yapıldığı işlevsel olmayan tabaka, diğer tarafta da üzerinde bu iki katmanı yapıştırmak için kaplanmış olan ince bir polimer boya tabakasıyla kaplı olan kırınım ağı desenli tabaka kalmaktadır (Şekil 3.3). Bu polimer boya tabakası izopropanol alkolle çıkartıldıktan sonra, ortaya yüzey plazmonlarını eşlemeye yarayacak olan yaklaşık 100 nm derinliğe sahip kırınım ağı yapısı çıkmaktadır.

Çizelge 3.1 Optik disklerin fiziksel verileri

Disk Türü	Periyot (nm)	Derinlik (nm)
CD	1600 nm	~ 180 nm
DVD	740 nm	~ 100 nm
BD-R	320 nm	40 nm



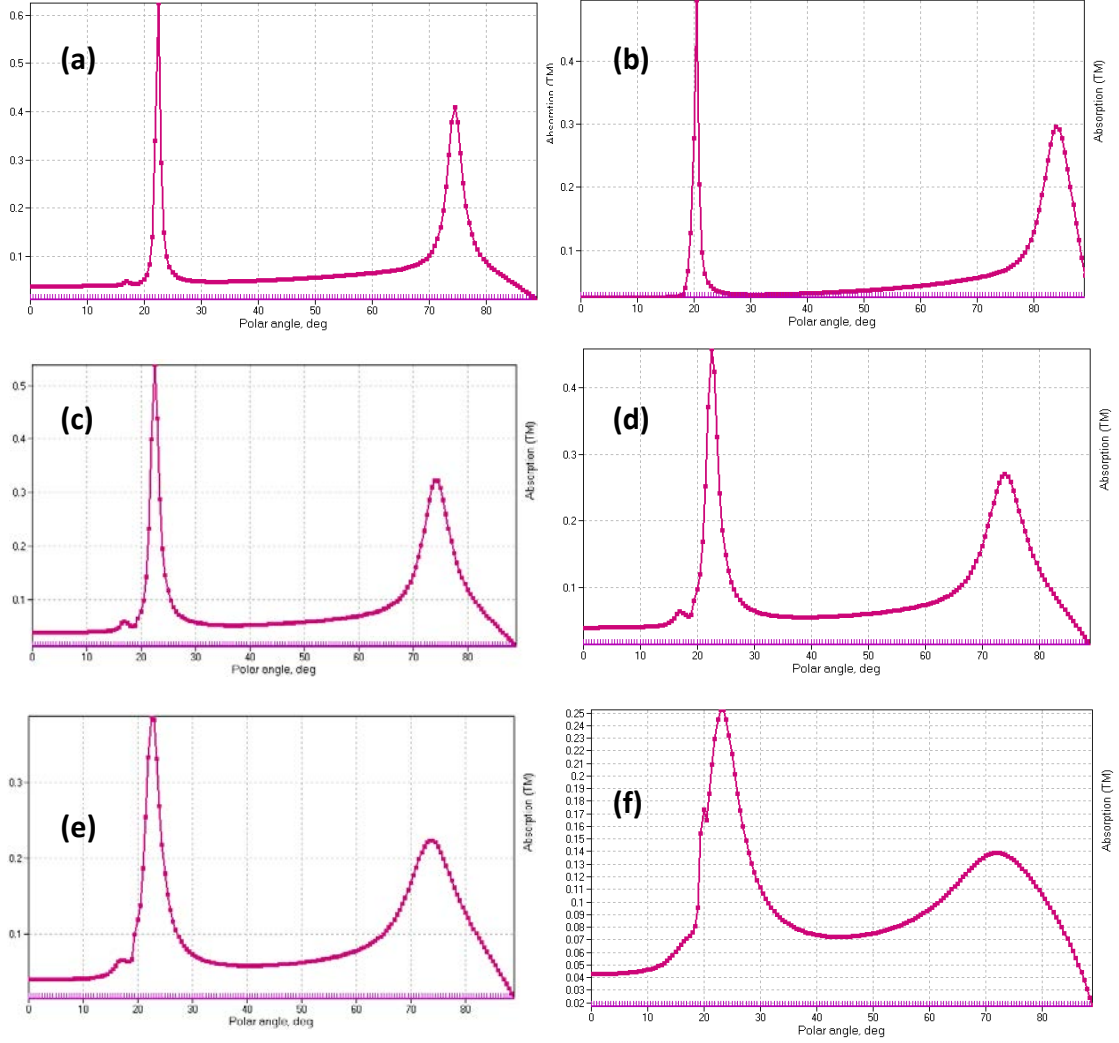
Şekil 3.2 DVD diskin fiziksel yapısı



Şekil 3.3 Plakaları ayrılmış DVD diski

3.2.2 Kırınım Ağı Derinliğinin Ayarlanması

Çalışmalar sırasında kullanılan 662 nm dalga boyundaki görülebilir kırmızı LED ışık kaynağı için PCGrate®-S(X) simülasyon programıyla hesaplanan teorik optimum kırınım ağı derinliğinin Şekil 3.4'te verildiği üzere 40 nm olduğu görülmektedir.



Şekil 3.4 662 nm ışık kaynağıyla farklı kırınım ağı derinliklerinde (a) 30 nm, (b) 40 nm, (c) 50 nm, (d) 60 nm, (e) 70 nm, (f) 100 nm görülen YPR eğrileri.

Düşey eksen ışığın TM modunda soğurulma oranını, yatay eksen ise ışığın gelme açısını vermektedir.

Standart bir DVD-R diski üzerindeki kırınım ağı deseninin bölüm 3.3.1'de bahsedilen yöntemlerle ortaya çıkartılmış halinin AFM ile ölçülmüş yüzey topografisi Şekil 3.1'de verilmiştir. Üretimleri gereği 100 nm veya daha fazla derinliğe sahip olabilen kırınım ağı

yapısının bu haliyle keskin bir YPR eğrisi vermediği, en ideal YPR anının 40 nm civarında derinliğe sahip kırınım ağı yapılarıyla gözlemlenebildiği bu şekilde teorik olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamaların deneysel ispatları da ileriki bölümlerde verilmiştir.

3.3 Kırınım Ağının Optimizasyonu

Işık kaynağından yüzeye gelen fotonlarla, uyarılmış yüzey plazmonları arasındaki momentum uyuşmazlığı düzlemsel yüzeylerde doğal bir eşlenmeyi (fotonlarla yüzey plazmonlarının enerji eşlenmesi) olanaksız kılmaktadır. Pürüzsüz düzlemsel bir metal ve dielektrik ara yüzeyinde yüzey plazmon polariton (YPP) dalga vektörü olan k_{YPP} ,

$$k_{YPP} \frac{w}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \geq k_{gelen} = \frac{w}{c} \sqrt{\epsilon_d} \quad [1, 2, 7] \quad (3.1)$$

denkleminde verildiği üzere her zaman gelen ışığın havada sahip olduğu dalga vektörü k_{gelen} değerinden daha büyük bir değere sahiptir. Burada ϵ_m metal katmanının, ϵ_d ise dielektrik katmanın permitivitelidir. Bu enerji eşlenmesi ve momentum uyuşması durumunu gerçekleştirmenin yollarından birisi kırınım ağı düzeni uygulamaktır. Üzeri belirli bir periyoda sahip sığ kırınım oluklarıyla şekillendirilmiş düzlemsel metal bir yüzeyin varlığı Eşitlik (3.1)'de verilen denklemi, m' 'nin kırınım derecesini temsil eden tamsayı değeri, Λ 'nın kırınım ağının periyodu ve $k_{gelen,düzlemiçi}$ 'nin gelen ışığın düzlem içindeki paralel vektörünü temsil ettiği

$$k_{YPP} = m \frac{2\pi}{\Lambda} + k_{gelen,düzlemiçi} \quad [1, 2, 7] \quad (3.2)$$

denkleminde dönüştürmektedir. Böylece yüzeye yaklaşan düzlemsel bir dalga belirli bir gelme açısında rezonatif olarak yüzey plazmonlarıyla enerjisini

$$\Theta_R = \arcsin \left[\text{Re} \left(\sqrt{\frac{\epsilon_m}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \right) - \frac{m\lambda}{\sqrt{\epsilon_d} \Lambda} \right] \quad [1, 2, 7] \quad (3.3)$$

denklemini uyarınca eşleyebilmektedir.

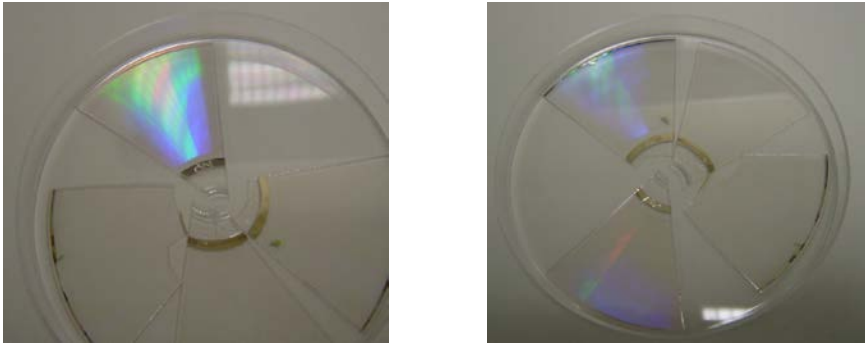
Optik disklerde varolan doğal kırınım ağı topografisini ayarlamak, sıfırdan kırınım ağı yapıları oluşturmak için karmaşık mikro-üretim cihazlarının devreye sokulmasına kıyasla hem zaman hem de mali yönden oldukça etkili bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Seçilen ışık kaynağının dalga boyuna bağlı olarak bu çalışmada doğal

kırınım periyodu $\Lambda = 740$ nm olan DVD diskleri kullanılmıştır. Optik bir DVD diski yapısal olarak, arasında spiral kırınım ağı yüzeylerinin olduğu iki polikarbonat diskten oluşmaktadır. Tekrar yazılabilir olanlarında kayıt ortamı olarak genellikle sert bir kalkojenit malzeme kullanılırken, DVD-R çeşitleri daha zayıf çözücülerle çözünabilen bir boya tabakası kullanılmaktadır. Arada kalan kırınım ağı yapısının ortaya çıkarılması için diskin bir kenarına mekanik olarak atılan bir çentikten faydalanarak birbiri üzerine oturtulmuş iki yüzeyden üst tarafta kalan koruyucu olanı fiziksel olarak küçük bir kuvvet uygulayarak diğerinden ayırmak mümkündür. Bu yöntemle birbirinden ayrılan yüzeylerden üzerinde kırınım ağı yapısı bulunan yüzeye zarar vermeden, üzerinde bulunan ince boya tabakası izopropanol ya da seyreltilmiş nitrik asit yardımıyla çözündürülerek ulaşılmak istenen desenli yapı ortaya çıkarılabilmektedir. Tipik olarak 100 nm ya da daha fazlası bir derinliğe sahip olan bu ortaya çıkartılmış kırınım ağları, bu halleriyle keskin rezonans eğrileri gözlemlenmesini mümkün kılmadıklarından, oluk derinliklerini optimal seviyeye indirmek için 1:4 oranında aseton/izopropanol çözeltisi ile diskin polikarbonat katmanı, örneğin çözelti içerisinde deneysel olarak tekrarlanarak optimize edilmiş süreler (20 - 30 sn.) içerisinde çok hafifçe çalkalanması suretiyle ıslak aşındırmaya maruz bırakılmıştır. Kullanılan ticari optik disklerin çeşit ve markasına bağlı olarak on saniyeden birkaç dakikaya kadar zaman alan aşındırma işlemi ile istenilen derinliklere ulaşılabilmektedir. Bunun sonrasında yüzeyler vakum altında ısı buharlaştırma yöntemiyle metal kaplanmıştır. Bahsedilen yöntemlerle optimize edilen farklı kırınım ağı profilleri için yapılan deneysel ölçümlere ve “güçlü eşlenmiş dalga analizine” [12-18] (Rigorous Coupled Wave Analysis - RCWA) dayalı olarak yapılan simülasyonlar sonrasında, istenilen en keskin rezonans eğrilerinin elde edilebilmesi için optimum kırınım ağı oluk derinliğinin 35-40 nm mertebelerinde olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Diğer taraftan farklı ticari optik disk çeşitleriyle çalışırken, DVD-RW’lerin bu tez çalışmasında elde edilen optimum kırınım ağı profiliyle örtüştüğü saptanmıştır. Bu tespit sayesinde ıslak aşındırma işlemi elenmiş olmakla birlikte elde edilmek istenen kırınım ağı kalıplarının hatasız kopyalanabilirliği (dolayısıyla aynı sonuçların tekrarlanabilirliği) ciddi bir şekilde artırılmış olmuştur.

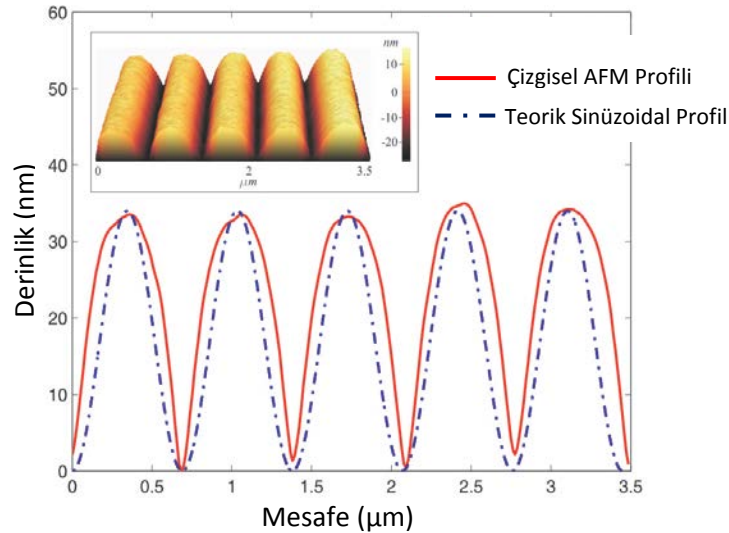
3.4 Materyal ve Yöntem

En keskin YPR görüntüsünü elde etmek için değişik yöntemler denenmiştir. Bölüm 3.2.1’de bahsedilen teknikle üzerindeki kırınım ağı yapısı ortaya çıkarılan DVD diskten işlenmek üzere parçalar kesilmiş (Şekil 3.5) ve 40 nm mertebelerinde kırınım ağı derinliğine ulaşmak üzere kesilen bu DVD disk parçaları farklı sürelerde 4:1 oranında izopropanol alkol ve aseton karışımı içerisinde hafifçe çalkalanmıştır. Bu hafifçe çalkalama işleminin, kırınım ağı yapısının homojen bir şekilde aşındırılmasına önemli katkısı olduğu gözlenmiş ve istenilen derinliğe ulaşmak için ideal sürenin 10 sn ile 1 dakika arasında değiştiği tespit edilmiştir.



Şekil 3.5 Farklı derinliklerde aşındırılmak üzere hazırlanmış DVD kesikleri.

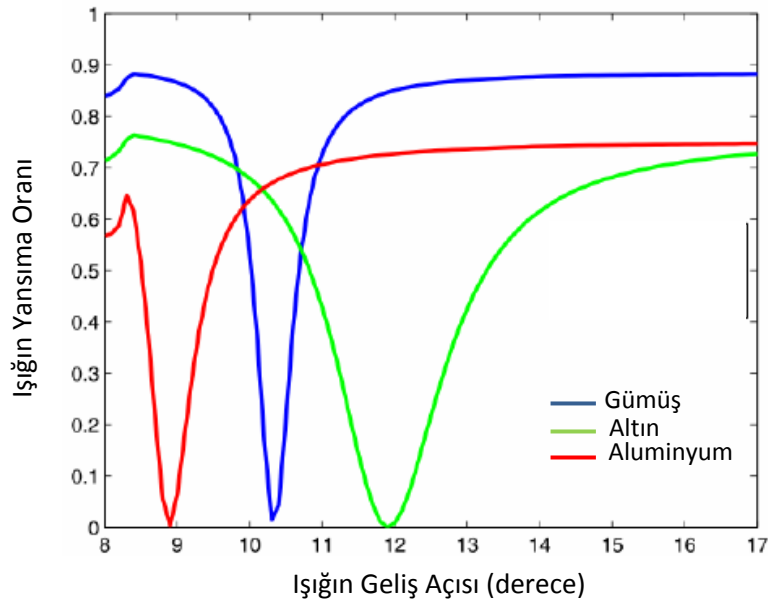
Hazırlanan örneklerde 40 nm mertebelerinde derinliğe sahip düzgün sinüzoidal yüzeyler oluşup oluşmadığı AFM’de görüntülenmiştir.



Şekil 3.6 35 nm derinliğindeki optimize edilmiş kırınım ağı yapısının AFM ile deneysel olarak ölçülmüş çizgisel profilinin simulasyon sonucu teorik olarak hesaplanmış sinüzoidal kırınım ağı profiliyle karşılaştırılması.

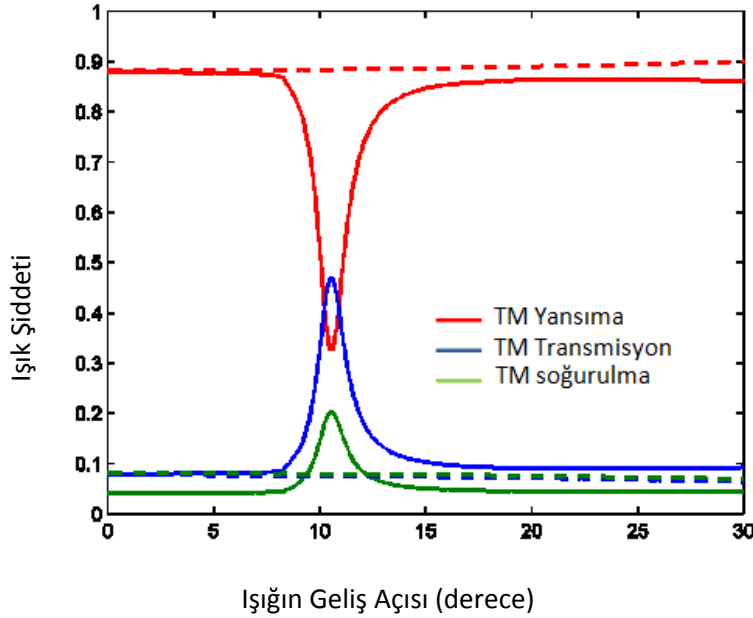
3.5 Metal Kaplama İşlemi

Yüzey plazmonlarını istenilen düzeyde iyileştirilmiş (keskinleştirilmiş) rezonans eğrileri verecek şekilde uyarabilmek için uygulanması gereken en uygun metal kaplaması işleminde önümüzde temel değişkenler olarak materyal seçimi ve kaplama kalınlığı bulunmaktadır. Materyal seçimi, kırınım indisi değişkenini etkilerken, kaplama kalınlığı ise soğurularak azalan plazmonik dalga vektörünün ilerleyişine etkimektedir. Gelen ışık kaynağı olarak 633 nm'lik dalgaboyunun kullanıldığı deneylerde, alüminyum ve altın malzemeleriyle yapılan kaplamalara kıyasla gümüş kullanıldığı durumda en keskin plazmon rezonans eğrilerinin gözlemlendiğine dair simülasyon sonuçlarının [66] deneysel olarak doğrulandığı gözlemlenmiştir.



Şekil 3.7 Gelme açısına bağlı olarak farklı metal kaplamaları için yansım spektrumu ($\lambda=633$ nm, kırınım ağı periyodu $\Lambda=740$ nm) [66].

Kaplama kalınlıklarına bağı RCWA simülasyonları [66] ve deneysel olarak yapılan doğrulamalar sonrasında 35 nm kalınlığında yapılan gümüş kaplamanın keskin rezonans eğrileri elde etmek için en uygun kaplama kalınlığı olarak karşımıza çıktığı tespit edilmiştir. Şekil 3.8’de verilen teorik hesaplama dayalı simülasyon sonuçlarıysa

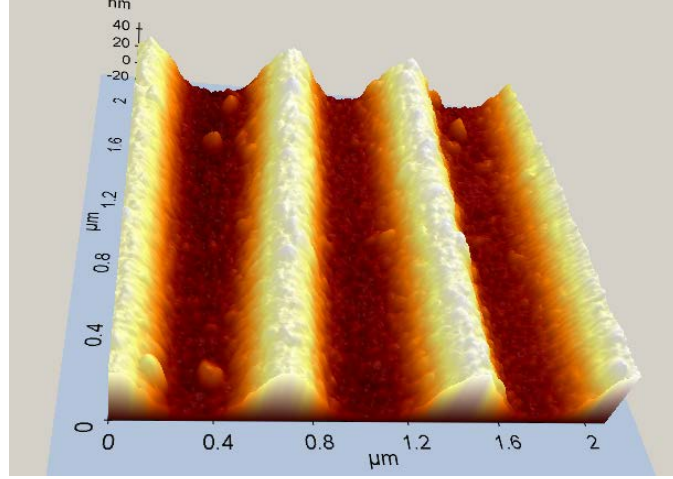


Şekil 3.8 TM modlarındaki yansıma, transmisyon ve soğurulma verisinin simülasyon sonuçları (sinüzoidal oluk derinliği 40 nm, gümüş kaplama kalınlığı 35 nm, gelen ışık dalga boyu 633 nm iken).

idealize edilmiş kaplama metaryeli (gümüş) ve kaplama kalınlığı bulunan yüzeylerin farklı modlardaki ışık tepkilerini göstermektedir. Bu teorik hesaplamalar, RCWA olarak isimlendirilen ve Maxwell denklemlerini temel alan ‘Güçlü Eşlenmiş Dalga Analizi’ algoritmaları içeren [12-17] ve kullanılan kaplama malzemesinin optik özelliklerini de hesaplamalarla ilişkilendirerek kaynaktan gelen ışınların ince metal film yüzeyi tarafından soğurularak yüzey plazmonlarının uyarıldığı durumu, yüzeye gelen ışınların yüzeye geliş açılarına bağlı olarak sergileyeceği yüzeyden yansıma/transmisyon ve soğurulma durumlarını ölçülen ışık şiddetindeki değişimlere bağlı olarak simüle etmektedir.

3.6 Yapılan Denemeler ve Sonuçları

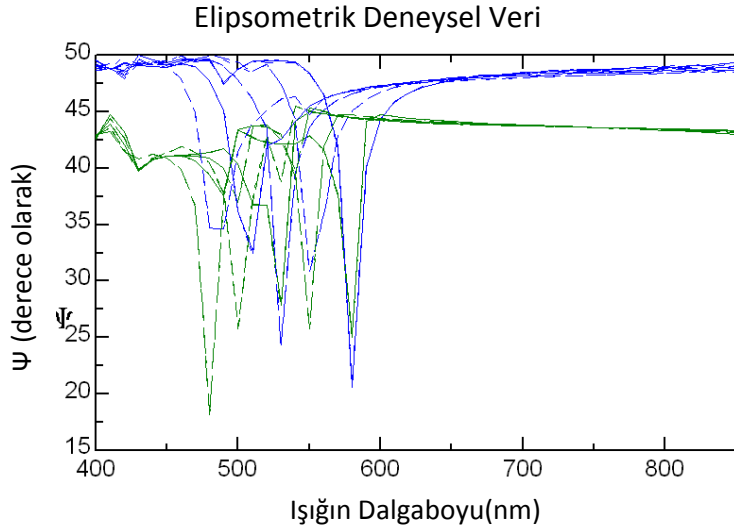
Deneme 1: İlk yapılan denemede aşındırılmış DVD örneği üzerine buharlaştırma yöntemiyle 50 nm kalınlığında Ag (gümüş) kaplanmış ve Şekil 3.9'daki AFM görüntüsü elde edilmiştir.



Şekil 3.9 50 nm Ag kaplı aşındırılmış DVD örneği.

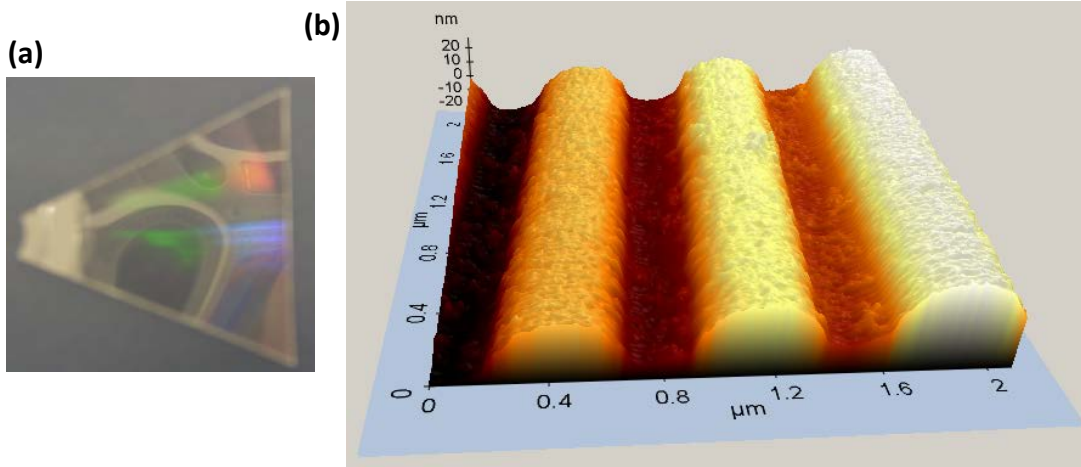
Kaplanacak yüzeyler, *keskin kenarlı ve dar periyodlu* olmadığından daha yüksek yüzey pürüzsüzlüğü sağlayan ısı buharlaştırma yöntemi tercih edilmiştir. Buharlaştırarak kaplama yönteminin saçarak kaplama yöntemine göre yüzey girintilerine daha eşit bir şekilde kaplama yaptığı ancak bu işlem sırasında buharlaştırma hızı ve sıcaklığı optimize edilmediği takdirde az da olsa yüzeyde Ag topaklanmaları oluşabildiği Şekil 3.9'da verildiği şekliyle gözlenmiştir.

Hazırlanan bu örneğin *elipsometrik ölçüm* sonuçları Şekil 3.10'da verilmiştir. 400 ile 900 nm dalgaboyları için 5 ile 25 derece arası tarama yapıldığında gözlemlenen YPR eğrilerine bakıldığında, 480 nm dalgaboyunda, soğurma oranı olan $\tan \psi = \tan 16 = \% 28$ değerini ve 580 nm dalgaboyunda $\tan 20 = \% 36$ değerini verdiği görülmektedir (kelime anlamı olarak *soğurma* şeklinde tanımlanabilecek olan *absorbsiyon*'un miktarı yüzde olarak *psi*'nin tanjant değerine eşit olmaktadır). Bu sonuçlar istenilen soğurulmanın, YPR anının net bir şekilde gözlemlenebilmesine karşın, istenilen keskinlikte bir YPR eğrisinin gözlenmesini sağlayacak bir orana ulaşamadığını göstermektedir.



Şekil 3.10 50 nm Ag kaplı aşındırılmış DVD örneğinin elipsometrik ölçümü.

Deneme 2: “Deneme 1” de bahsi geçen yüzeyde homojen bir şekilde yayılmadığı gözlemlenen Ag tabakasının iyileştirilmesi için ısı yöntem kullanılması denemesi yapılmış ve Şekil 3.11’de verildiği üzere topografik yapının biraz daha homojenize olduğu gözlemlenmiştir.

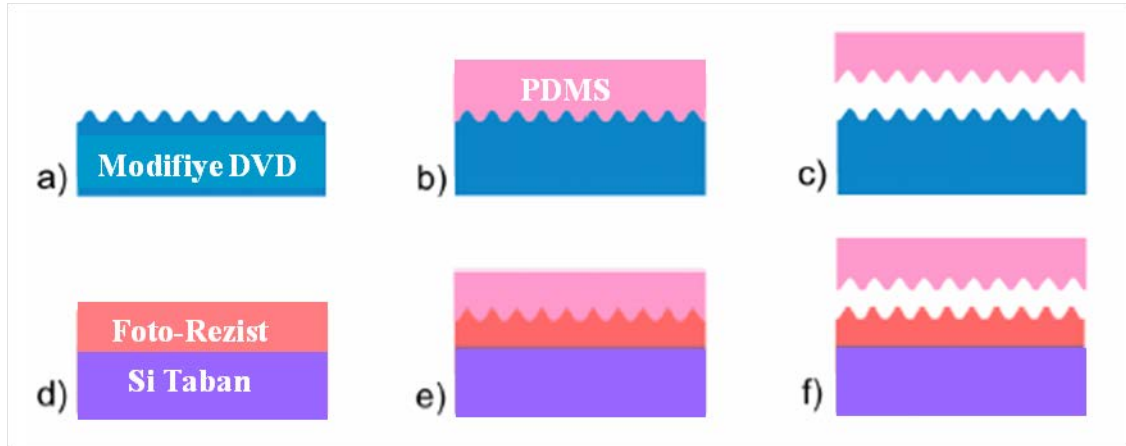


Şekil 3.11 Deneme 1’deki örneğin ısı yöntemle (170 C hot plate) yüzey pürüzsüzlüğünün iyileştirilmesi sonrası

(a) örnek yüzeyi ve (b) örneğin AFM yüzey topografisi.

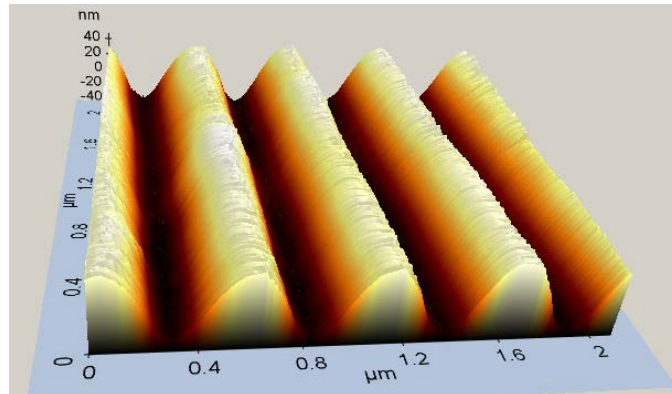
Deneme 3: Daha pürüzsüz bir kırınım ağı yapısına ulaşabilmek için ikinci deneme çerçevesinde silikon tabanlı bir polimer olan PDMS (Polidimetilsiloksan) kullanılarak kalıplama yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle kırınım ağı yapısı PDMS üzerine basılarak istenilen başka bir tabana kopyalanabilmekte [67] ve bu PDMS’li kırınım ağı yapısı YPR

uyarılması için kullanılabilir [8]. Şekil 3.12’de bu kopyalama işleminin görselleştirilmiş olan adımları verilmiştir.



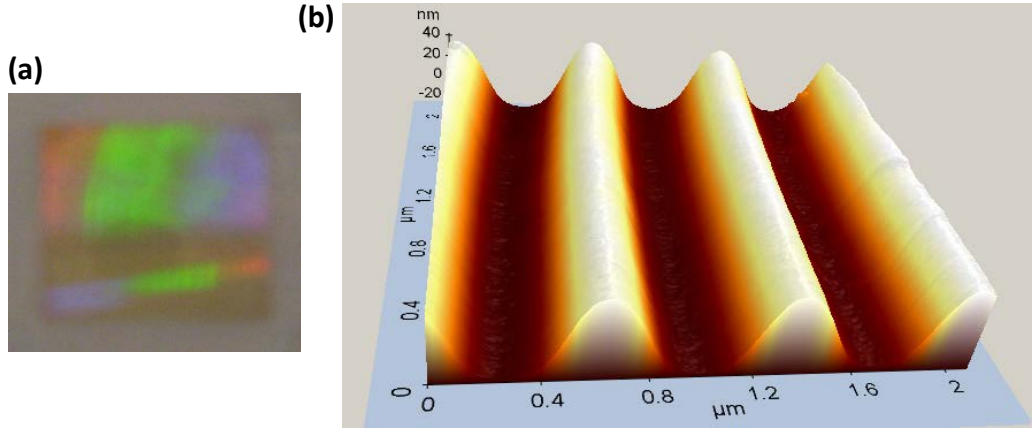
Şekil 3.12 (a) DVD disk parçası üzerine (b) hızlı döndürme yöntemiyle yayılan ince bir PDMS tabakası yardımıyla (c) kopyalanan kırınım ağı yapısı, (d) ince bir fotorezist tabakası üzerine (e) baskılama yapılan PDMS kalıbı ısıtıldıktan sonra (f) yüzeyden sökülerek alttaki Si taban üzerine geçirilmiş olur.

Bu yöntemle oluşturulan ve istenilen kırınım ağı yapısının şablonunu oluşturan PDMS kalıbının AFM görüntüsü Şekil 3.13’te verilmektedir ve kalıplanan yapının pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğu görülmektedir.



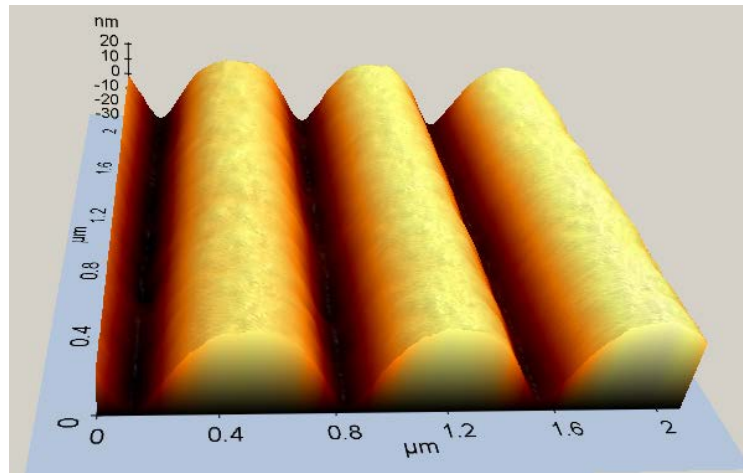
Şekil 3.13 – DVD disk üzerinden PDMS ile kalıplanmış kırınım ağı yapısı.

Şekil 3.12’de d,e ve f adımlarında anlatıldığı üzere ince bir cam taban üzerine nano-ölçekli baskılama yöntemiyle geçirilen kırınım ağı yapısının resmi Şekil 3.14 (a)’da; artık kullanıma hazır olan bu yapının AFM görüntüsü ise Şekil 3.14 (b)’de verilmektedir. Kopyalanan yapının pürüzsüz topografik yapısı dikkat çekmektedir.



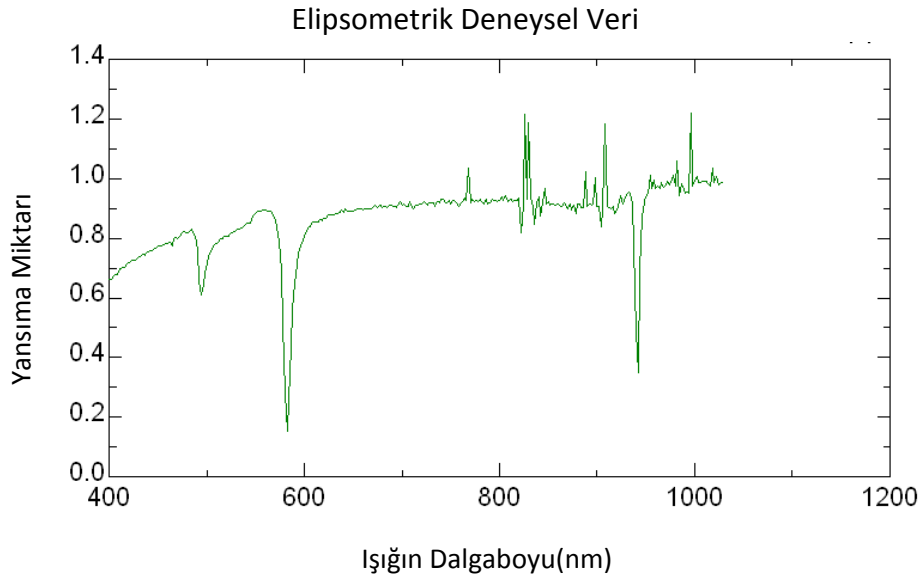
Şekil 3.14 (a) PDMS kalıpla ince cam taban üzerine baskılanmış kırınım ağı yapısı, (b) PDMS kalıpla baskılanmış kırınım ağı yapısı.

Deneme 4: En ideal kırınım ağı yapısını oluşturabilmek için piyasada bulunan çeşitli DVD disk çeşitleri ve markaları denenmiş ve maxell marka yazılabilir DVD-RW disklerde 40 nm mertebelerinde derinliğe sahip sinüzoidal periyodik bir yapının kullanıldığı tespit edilmiştir. Önceki denemelerde bu derinliğe ulaşmak için aşındırma yöntemi kullanılması gerekirken, bu model optik veri depolama diskleri seçildiği takdirde, kırınım ağı yapısını ortaya çıkarmak için kullanılan aşındırmaya dayalı oluk derinliği optimizasyonlarına gerek kalmadığı saptanmıştır. Böylece aşındırma işlemi sırasında yüzeyin topografik yapısında meydana gelen düzensizlikler de ayrıca bertaraf edilmiş olmaktadır. Şekil 3.15'te bu DVD-RW yapısının işleme tabi tutulmadan AFM görüntüsü verilmektedir.



Şekil 3.15 Maxell DVD-RW diskin işlenmemiş yüzey yapısı

Yüzeyin pürüzsüz yapısı ve ideale yakın olan 40 nm'lik kırınım ağı derinliği şekilden görülebilmektedir. Bu DVD-RW disk üzerindeki kırınım ağı yapısı daha önceden bahsedilen yöntemlerle ortaya çıkarıldıktan sonra üzeri 35 nm kalınlığında gümüş ile kaplanmış ve bu örneğin elipsometrik ölçüm sonucu Şekil 3.16'da verilmiştir. Yatay ekseninde görülen dalgaboyu aralığında, örnek üzerine yollanan ışığın gelme açısı 15 dereceye ayarlanmış durumda TM modunda yansıma oranını gösteren şekilde, 590 nm ve 940 nm dalgalı boylarında iki tane olmak üzere karakteristik YPR eğrileri gözlemlenmektedir. 590 nm dalgalı boyunda yansıma oranının % 10 gibi düşük bir oranda kalmış olması, ışığın bu 15 derecelik gelme açısında yüzeyde % 90 oranında soğurularak, yüzey plazmonlarının uyarıldığını ve dolayısıyla keskin bir YPR anının görüntülenebileceğini göstermektedir.



Şekil 3.16 35 nm Ag kaplı Maxell DVD-RW örneğinin elipsometrik ölçümü.

Bu tatmin edici ölçüm sonuçlarından sonra deneylere Maxell DVD-RW disklerinde bulunan kırınım ağı yapısı kullanılarak (ve bunların kopyalanması gerçekleştirilerek) devam edilmesine karar verilmiş ve hazırlanan örneğin laboratuvar ortamında yeniden tasarlanan optik deney düzeneğinde test edilmesi aşamasına geçilmiştir.

3.7 Kullanılan Deney Düzenekleri

YPR prensibiyle çalışacak olan hedef biyo-algılayıcı sistemin yapısı en temel haliyle şunlardan oluşmaktadır:

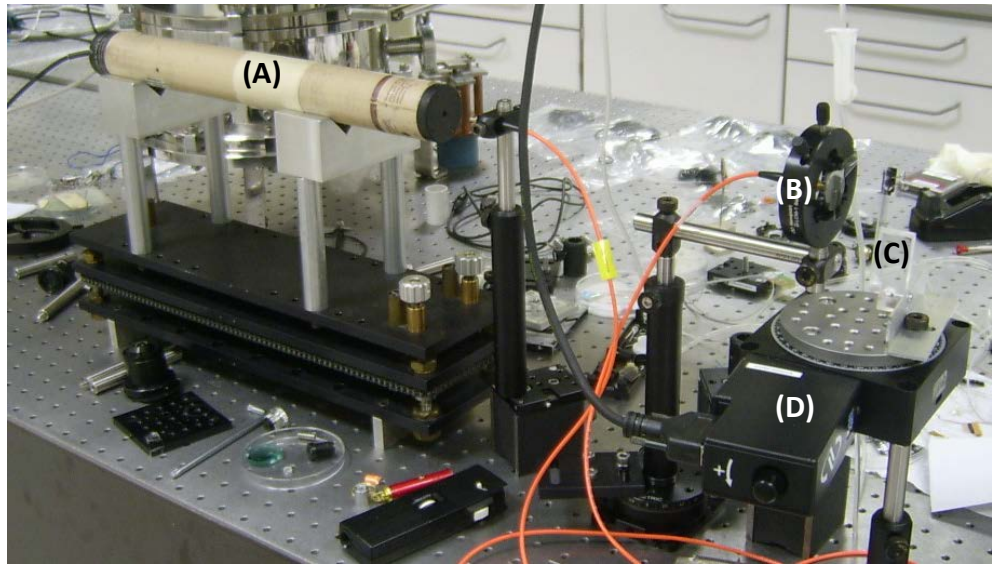
- Işık kaynağı,
- Üzeri YPR'yi oluşturacak olan 35 nm mertebelerinde Ag/Au kaplı kırınım ağı yapısı,
- Yansıma¹ modunda çalışılacaksa görüntüleme amaçlı standart bir CMOS kamerası,
- Transmisyon² modunda çalışılacaksa görüntüleme amaçlı standart bir CMOS kamerası ya da okuma yapma amaçlı ışık algılayıcı bir taban.

¹ Bu tez çalışmasında kırınım ağının karakterizasyon ve optimizasyonunun ilk aşamalarında yansıma modunda da çalışılmış ve geleneksel okuma yöntemi olan kameralı düzenekler tasarlanmıştır.

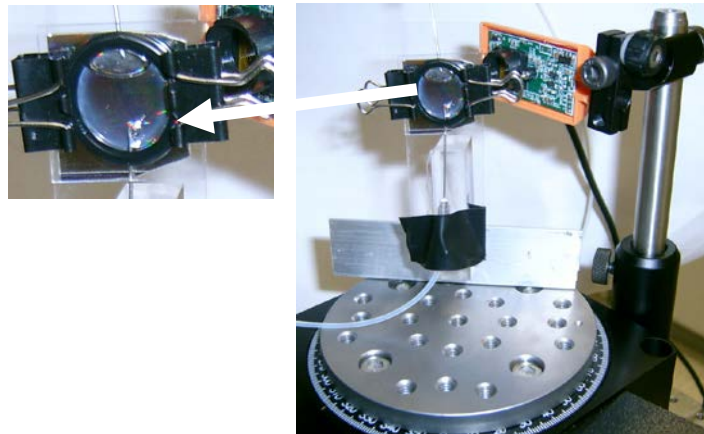
² İlerleyen aşamalarda ise transmisyon modunda öncelikle kamera ile görüntüleme yapılmış, sonraki aşamalarda ise yine aynı modda çalışmak üzere bütünleşik özgün tasarıma geçilerek (Bölüm 4) kamera devre dışı bırakılarak yerine ışık algılayıcı taban kullanılmaya başlanmıştır.

3.7.1 Düzenegın Tasarlanması

Şekil 3.17’de görölen düzenekte; (A) – 633 nm dalgaboylu Helyum-Neon lazer ışık kaynağı, (B) – lazerin aydınlatma çapını daraltmak için optik fiber kablo ve odaklamak için mercek, (C) – Kırınım Ağı Yapısı, (D) – Açısal olarak kontrol edilebilen hareketli bir sürücü ve görüntöleme amaçlı olarak CMOS kamerası kullanılmıştır. Kırınım ağıının üzerinden akan ve kırınım indisi değışiklik gösterecek farklı sıvıların içersine pompalanabildiğı bir akış haznesi (Şekil 3.18) tasarlanmış ve (D) hareketli sahnesinin üzerindeki (C) platformuna yerleştirilmiştir.



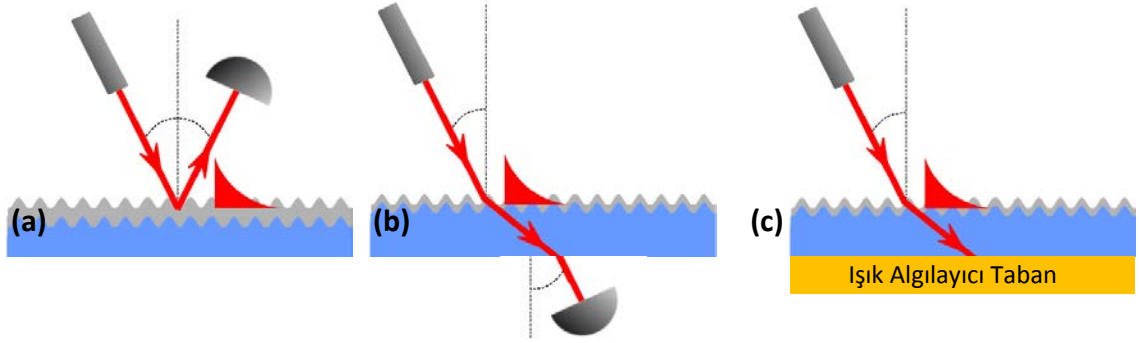
Şekil 3.17 Optik deney düzenegi



Şekil 3.18 Sıvı Akış Haznesi

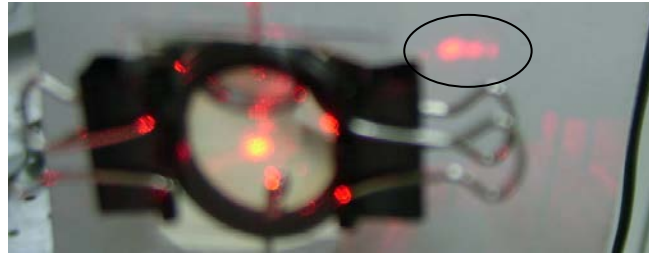
3.7.2 YPR Anının Gözlemlenmesi

Bu tez çalışması esnasında okuma yapma ve görüntüleme maksadıyla sırasıyla aşağıdaki düzenek yapıları tasarlanmıştır.



Şekil 3.19 (a) Yansıma Modu, (b) Transmisyon Modunda kameralı görüntüleme, (c) Transmisyon Modunda bütünleşik algılayıcı tabanla okuma yapma.

Belirli bir açıyla, üzerinden mikro-akışkan kanal akan kırınım ağı yapısı üzerine gönderilen He-Ne lazer kaynağı, yüzey plazmonlarını uyarmakta ve 17 derecelik bir açı altında normalin sağ tarafında eksi mertebeli transmisyon deseni olduğu Şekil 3.20’de arkaya yerleştirilen beyaz fon üzerinde görülmektedir. Ters yönde ışığın -17 derecelik bir açıyla kırınım ağı üzerine düşürülmesi durumunda normalin sol tarafında artı mertebeli eşlenik bir transmisyon deseni oluşacaktır.



Şekil 3.20 – YPR anının transmisyon modunda gözlemlenmesi

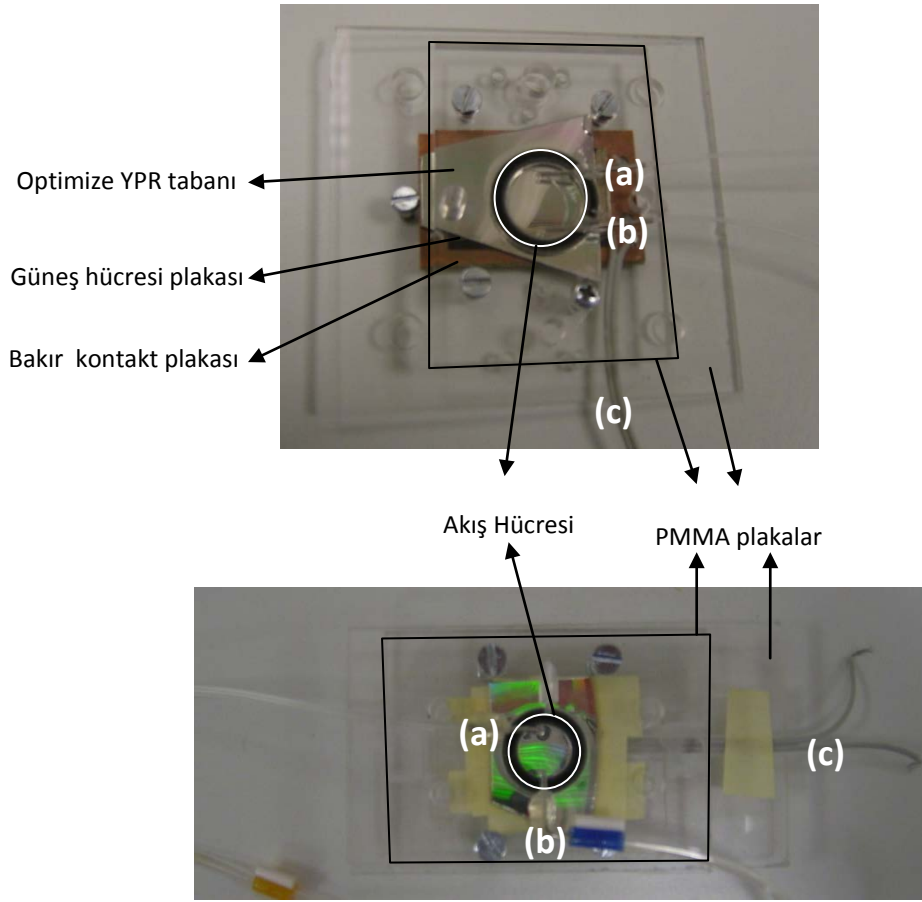
YPR anının yansıma ya da transmisyon modlarında gözlemlenmesi mümkündür. Her iki çalışma modu da kendine özgü ışık desenleri yaratmaktadır. Çalışmalar esnasında YPR’nın gözlemlenmesi için farklı kırınım ağı substratları da oluşturulmuştur. Yansıma modunda gözlemlenme yapmak için tek katlı kırınım ağı yapısı, transmisyon modunda gözlemlenme yapmak içinse hem tek katlı hem de bütünleşik ışık algılayıcı tabanlı yapılar denenmiş ve tez içerisinde yeri geldiği zamanlarda anlatılmaktadır.

ÖZGÜN BÜTÜNLEŞİK ALGILAMA MEKANİZMASI

“Yüzey Plasmon Rezonansı prensibine dayalı biyosensör tasarımı” konulu doktora tezi çalışmasının temel özgün yönlerinin anlatıldığı bu bölümü, geliştirilmiş olan algılama mekanizmasının yapabildiklerini test etmek amacıyla kurgulanmış bir dizi moleküler etkileşim protokolünün denenmiş olduğu son bölüm takip etmektedir. Bu bölümde, bahsi geçen biyosensörün yapacağı hassas optik algılamalarda kullanılacak olan alternatif kırınım ağı yapılarından yola çıkılarak en uygun yapının üretim aşamaları anlatılmaktadır. Elde edilen en uygun kırınım ağı yapısına, plazmonik rezonansın algılanması amacıyla ışığa duyarlı bir foto-diyot taban bütünleştirilmiş, içinden akıtılan sıvı yoğunluklarındaki değişimlere bağlı rezonans kaymalarının tespit edilmesi amacıyla da sırasıyla makro ve mikro ölçekli sıvı-akış kanalları sisteme bütünleştirilerek, en temel anlamda bir biyo-algılayıcı mekanizma oluşturulmuştur.

4.1 Akış Sisteminin Oluşturulması

Etkileşimleri gözlemlemek üzere algılayıcı YPR yüzeyi üzerinden biyolojik örneklerin akıtılması gerektiğinden bütünleşik olarak tasarlanan akış sisteminin optimizasyonu sırasında çeşitli denemeler yapılmıştır.

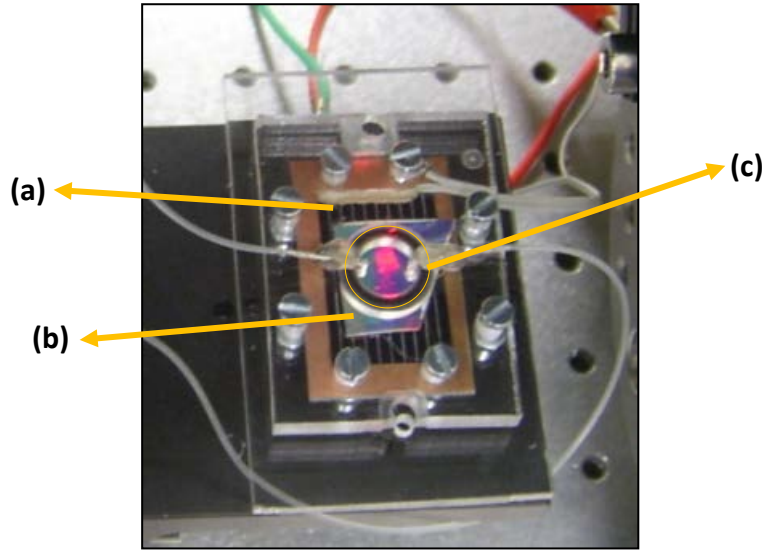


şekil 4.1 Bütünleşik Akış Hücresi Tasarımının Optimizasyonu: (a), (b) Akış giriş-çıkış borulamaları, (c) Işık algılayıcı tabanın kablolaması.

Akış hücresinin sızdırmazlığını sağlayacak şekilde giriş-çıkış borulamasını yapmak ve akış sırasında hücre içerisinde hava kabarcıklarının oluşumunu engelleyebilmek maksadıyla sayısız akış hücresi tasarımı algılayıcı mekanizmaya bütünleştirilmeye çalışılmış ve sonuçta bu kriterleri gerçekleyen şekil 4.1’de gösterilmiş olan iki adet başarılı tasarım tekrarlanabilir halde üretilebilir hale getirilmiştir.

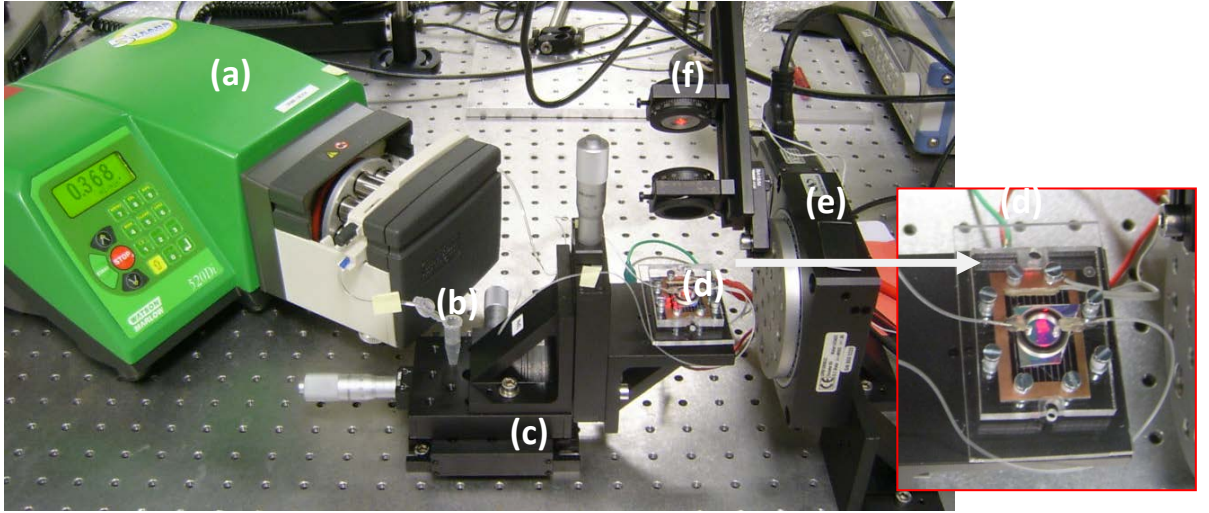
4.2 Deney Düzeneğinin Oluşturulması

Tez çalışmasının önceki fazlarında karakterizasyon ve optimizasyonu başarıyla sonlandırılmış olan kırınım ağı yapılı YPR'ye dayalı bütünleşik algılayıcı mekanizma Şekil 4.2'de işaretlenmiş olduğu üzere üç tabakadan oluşmaktadır. (a) En altta YPR transmisyon modunda geçen ışığı yakalayan ışık algılayıcı güneş hücresi kesmesi (daha detaylı bilgi için bkz. EK-B), (b) onun üzerinde kırınım ağı yapısı gömülü optimize edilmiş bir optik dvd kesmesi ve (c) bu YPR yüzeyi üzerinde mikrolitrelik akış hacmine sahip bütünleşik bir akış hücresi ile bu hücrenin giriş çıkış borulama tertibatı yer almaktadır.



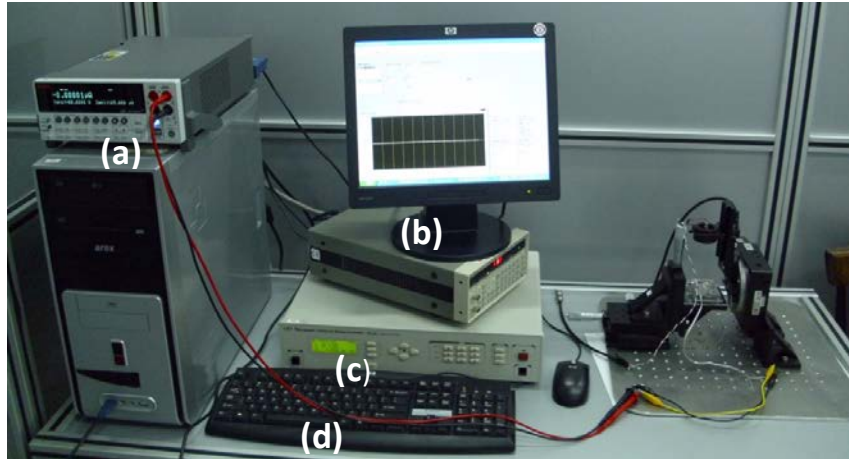
Şekil 4.2 Bütünleştirilmiş algılayıcı mekanizmanın katmanları.

Akış sırasında kotrollü ve etkili bir yüzey immobilizasyonu sağlanabilmesi için peristaltik bir pompa (Şekil 4.3 (a)) kullanılmaktadır ve akış hızı 10 rpm'de 0.368 mililitre/dakika olarak optimize edilmiştir. Optoelektronik algılama yapılmak üzere önceden belirli derişimlerde hazırlanmış biyolojik örnekler (Şekil 4.3 (b)), peristaltik pompa yardımıyla YPR algılayıcı yüzey (Şekil 4.3 (d)) üzerinden akıtılmaktadır. Akış hücresi içerisinde geçen biyolojik örneklerin algılayıcı yüzey üzerinde yarattıkları plazmonik değişimin gözlemlenebilmesi için ise; ışık kaynağından (Şekil 4.3 (f)) gönderilen ışının düştüğü nokta 3 ekseninde hareketli tabla (Şekil 4.3 (c)) ile ayarlandıktan sonra bilgisayar kontrollü döner tabla (Şekil 4.3 (e)) yardımıyla algılayıcı yüzey -50 ile 50 derece arasında küçük adımlarla taranmakta ve YPR açısı kayması aletsel olarak kaydedilmektedir.

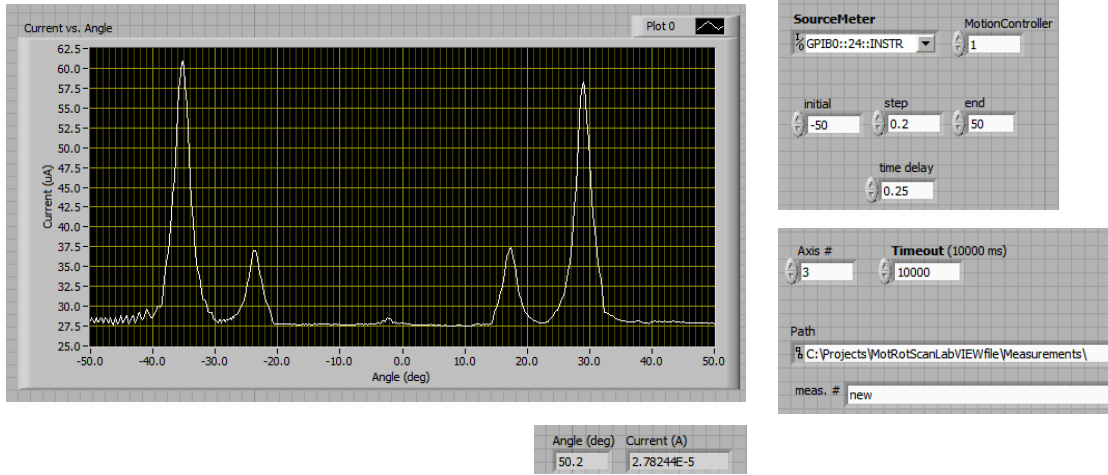


Şekil 4.3 Biyomoleküler Etkileşimleri Algılamak üzere oluşturulmuş Deney Düzenegi:
 (a) Peristaltik Pompa, (b) Biyolojik Örnek, (c) 3 eksenli hareketli tabla,
 (d) YPR algılayıcı bütünleşik akış hücresi, (e) Bilgisayar kontrollü döner tabla,
 (f) Lazer diyot ışık kaynağı (650 nm, < 5mW).

Yukarıda oluşturulmuş olan algılama donanımı, gerekli okuma ve ölçümlerin yapılabilmesi amacıyla çevre birimleriyle (Şekil 4.4) birlikte tasarlanmıştır. Ölçüm esnasında belirli bir açı aralığında tarama yapılarak ışık algılayıcı tabandan gelen değişken akım değerleri kaydedilerek çizdirilmekte (Şekil 4.5) ve bu şekilde oluşan rezonans anları gerçek zamanlı olarak ve/veya ayırık zamanlı olarak takip edilebilmektedir.



Şekil 4.4 Deney düzeneginin kontrol ve okuma birimleriyle olan bağlantıları:
 (a) Işık algılayıcı tabanın mikroamper okumalarının yapıldığı kaynak-ölçer,
 (b) Labview kontrol arayüzü [Hasan Güner'in değerli katkılarıyla],
 (c) Işık kaynağını ayarlamak için fonksiyon üretici, (d) Döner tablanın sürücüsü,
 (e) Biyomoleküler etkileşim algılama düzenegi.

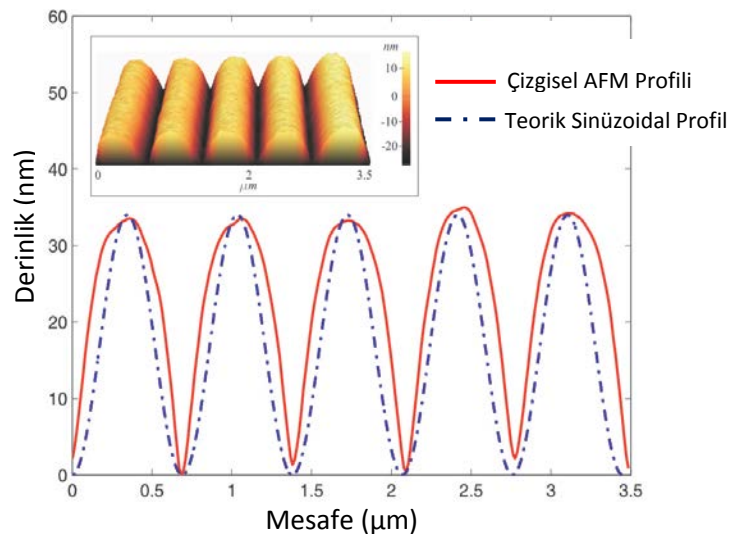


Şekil 4.5 Labview arayüzünde artı ve eksi birinci ve ikinci plazmonik harmoniklerinin oluşumunun gözlenerek kaydedilmesi.

4.3 Bütünleşik Algılayıcı Mekanizmanın Prensipde Çalışırılığının Araştırılması

4.3.1 Kırınım Ağı Profilleri

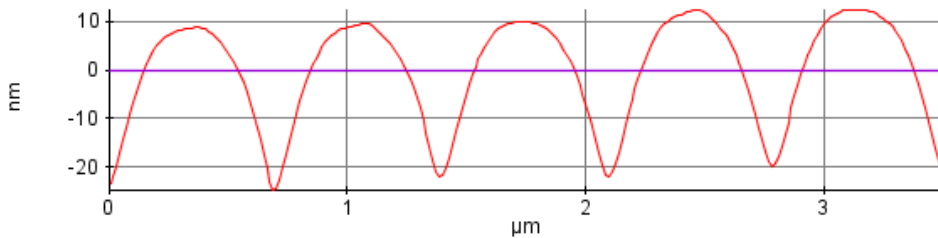
Kırınım ağı yüzeylerinin geometrik optimizasyonu, periyodisite, oluk derinliği, yüzey profili ve iş çevrimi (duty cycle) olmak üzere birtakım sınırlamalara bağlıdır. Λ değişkeni ile tanımlanan periyodisite, bu tez çalışmasında kullanılan DVD optik diskleri göz önünde bulundurulduğunda tipik olarak 740 nm'lik bir değerle sabitlenmiş durumdadır. Kullanılan disklerde doğal olarak var olup optimize edilebilen yüzey profili yapısı ise Şekil 4.6'daki gibidir.



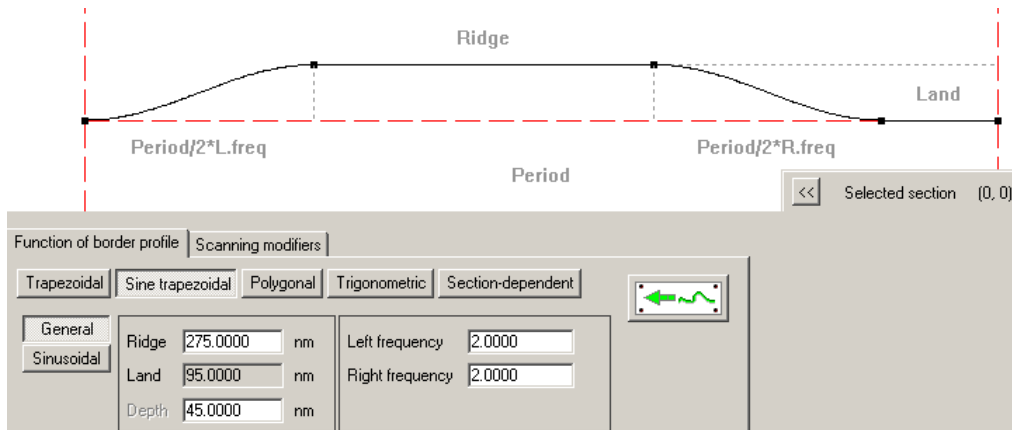
Şekil 4.6 DVD'lerde doğal olarak bulunup optimize edilebilen kırınım ağı yapısı.

Kırınım ağı yapısının karakteristik parametresi olan oluk tepesi genişliğinin (275 nm) kırınım ağı periyoduna (740 nm) oranını veren iş çevrimi (duty cycle) parametresi de önceden belirlenmiş olan yaklaşık %37 mertebesinde bir değere sahip bulunmaktadır. Kırınım ağının derinliği ve şekli, plazmonik rezonansın genişliğini, diğer bir tanımlamayla kalite faktörünü etkilemektedir. Rezonansa geçme açısının, rezonans eğrisinin yarı maksimum değerinde sahip olduğu tam genişlik değerine (Full Width at Half Maximum) oranını ifade eden kalite faktörü, rezonans eğrilerinin keskinliğinin bir ölçüsüdür.

Kırınım ağı yapıları, atomik kuvvet mikro-görüntülemesi (Atomic Force Microscopy) kullanılarak karakterize edilmiştir ve elde edilen optimum yüzey topografisi Şekil 4.6'daki ekli küçük resimde gösterilmiştir. Şekil 4.6'nın kendisi tekdüze bir sinüzoidal yüzey profiliyle araştırmalarımızda kullanılan iki-harmonikli yüzey profilini karşılaştırmaktadır. Hazırlanan gümüş kaplı kırınım ağlarının profilini kesin bir şekilde ortaya koyan AFM topografi görüntüleri göz önünde bulundurularak, geniş bir alanda ortalaması alınmış temsili bir çizgisel profil, RCWA simülasyonlarına taşınarak, elimizdeki gerçek kırınım ağı profiline dair teorik çıkarımlar yapılmıştır.



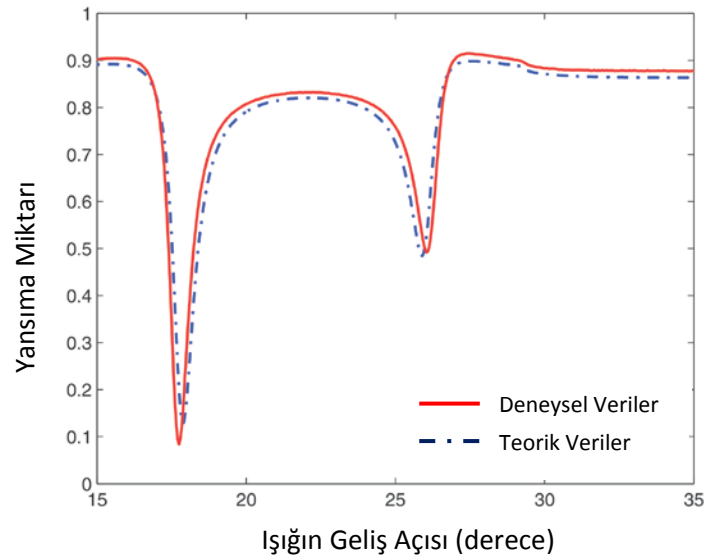
Şekil 4.7 Optimize edilmiş kırınım ağının AFM hat profili



Şekil 4.8 Optimize edilmiş kırınım ağının PCGrate'e taşınmış hat profili

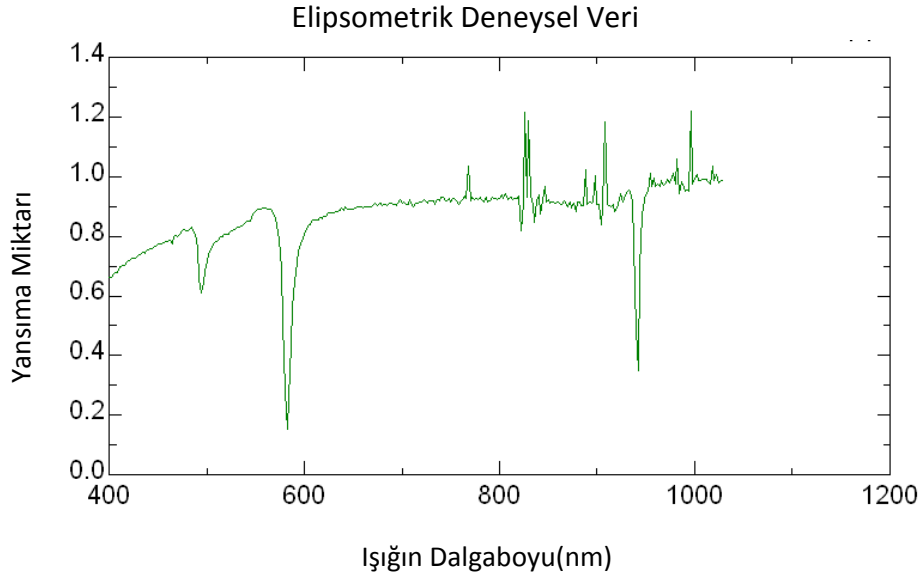
Bunun için optimize edilmiş kırınım ağı yapısının AFM’de alınmış yüzey topografisi bilgisi kullanılarak hesaplanan bu yapılara ait çizgisel hat profilleri (Şekil 4.7), teorik simülasyonların yapılacağı PCGrate programına aktarılmaktadır (Şekil 4.8).

Tekdüze bir profil kullanımına kıyasla iki-harmonikli bir yüzey profilinin devreye sokulmasının ikinci dereceden olan kırınımı güçlendirmekte olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.9’da 550 nm’lik dalgaboyuyla gelen ışık altında, oluşan birinci harmonikle beraber az önce bahsedilen şekilde güçlendirilmiş olan ikinci harmoniğin gösterimi yapılmıştır. Şekil, plazmonik yansıma için hem teorik RCWA simülasyonlarının hem de deneysel elipsometrik ölçüm sonuçlarının ne kadar iyi bir şekilde örtüştüğünü vurgulamaktadır.



Şekil 4.9 Optimize edilmiş kırınım ağı yapısının havada 550 nm’lik dalgaboylu ışık altında sergilediği yansıma davranışının 1. ve 2. dereceden plazmonik rezonans uyarılmaları gösterdiği deneysel (elipsometrik) ve teorik (RCWA simülasyon) sonuçları.

Diğer bir taraftan da kırınım ağlarının iki-harmonikli yüzey profili Şekil 4.10’da verildiği üzere, kaynaktan gelen ışığın geliş açısı değiştirilmeden iki farklı dalga boyunda plazmonik rezonans piki gözlemlenebilmesini mümkün kılmaktadır.

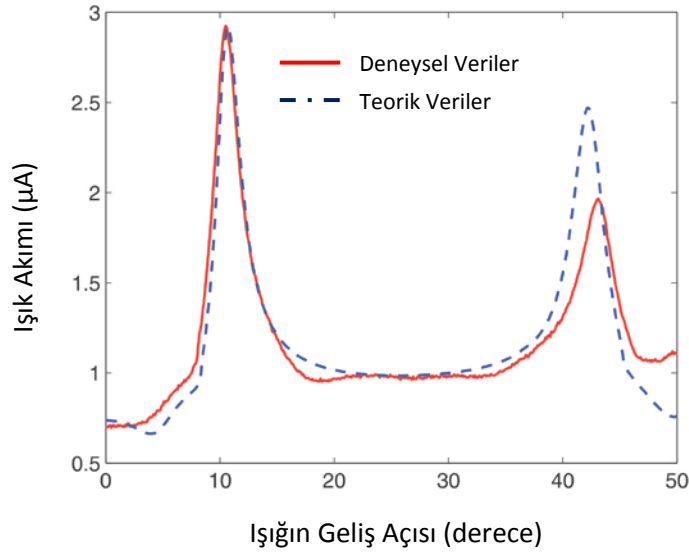


Şekil 4.10 Bahsedilen kırınım ağı yapısının 2 farklı dalgaboyunda keskin rezonans veren elipsometrik ölçümü.

4.3.2 Optimize Edilmiş Kırınım Ağında Yüzey Plazmonları

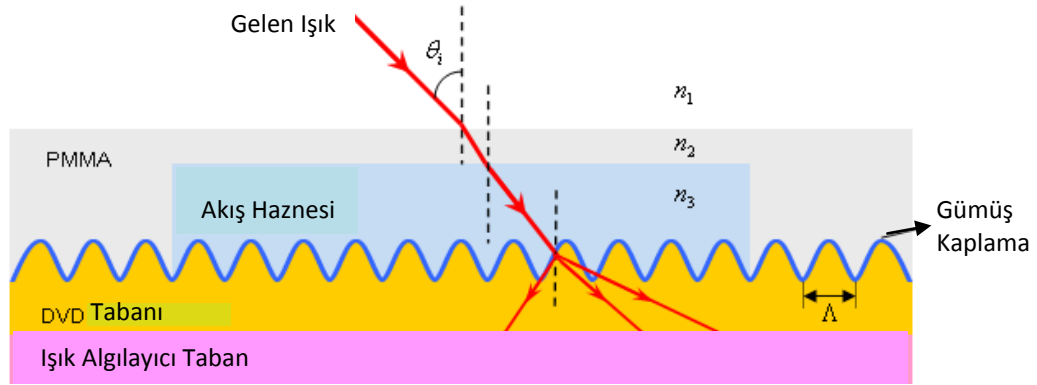
Öncelikle rezonatif eşlenmenin gerçekleşeceği uygun gelme açıları tespit edilmiştir. Eşitlik (3.3)'teki kırınım ağı denklemi, $\Lambda = 740$ nm periyoditeli gümüş kaplamalı bir kırınım ağının 633 nm dalgaboyunda ışık kaynağı ile uyarıldığında, rezonansa geçme açılarını birinci harmonik için $\theta_{R1} = 8.8^\circ$, ikinci harmonik için $\theta_{R2} = 44.6^\circ$ olarak hesaplamaktadır. RCWA simülasyonları ise Şekil 4.11'de gösterilen deneysel sonuçlarla oldukça iyi derecede örtüşerek gerçeğe daha yakın bir şekilde bu açıları $\theta_{R1} = 10.3^\circ$ and $\theta_{R2} = 42^\circ$ olarak öngörmektedir. İki-harmonikli kırınım ağı profili kullanmak, yüksek dereceli harmonikler yaratmayan tekdüze sinüzoidal kırınım ağlarından farklı olarak tek harmonik yanında çift harmonik oluşumunu da mümkün kılarak $\theta_{R2} = 42^\circ$ yakınlarında görülen plazmonik rezonanslara yol açmaktadır.

Gümüş kaplamalı kırınım ağlarının plazmonik özellikleri, değişen açılı spektroskopik elipsometre (J. A. Woollam, VASE) kullanılarak yansıma spektrumunun ölçülmesi suretiyle karakterize edilmiş ve buradan elde edilen sonuçların teorik çözümler yapan RCWA simülasyonlarıyla kıyaslamalı değerlendirme sonuçları Şekil 3.8 ve Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.11 Bütünleşik algılayıcı mekanizmanın, hava ortamında ışığın gelme açısının bir fonksiyonu olarak ölçülmüş, deneysel ve teorik ışık-akımı cevabı.

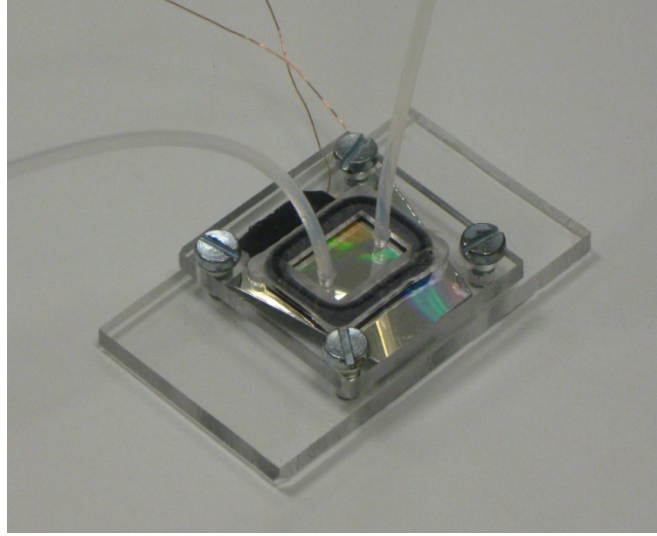
4.3.3 Bütünleşik Sistem ve Deney Protokolü



Şekil 4.12 Aygıtın kesitsel şematifi.

Şeffaf polimetil metakrilit (PMMA) kullanılarak 1500 μm (uzunluk) x 1200 μm (genişlik) x 400 μm (derinlik) ölçülerine sahip 720 μl 'lik sıvı kapasitesine sahip bir hazne yapılmıştır. Kanal içerisindeki sıvı akımı, kılcal damar etkisinden yararlanmak üzere açılan birer sıvı giriş-çıkış deliği ve bu deliklere gömülmüş ince borulama sistemiyle sağlanmıştır. Şekil 4.12'de kesiti verilen bu kanal yapısı, Şekil 14.13'te gösterildiği gibi kırınım ağı yapısının üzerine oturtulmuştur.

Yerçekiminin pompalayıcı etkisinden yararlanmak maksadıyla belirli bir yükseklikte tutulan iki farklı serum şişesi içerisinde biriktirilen saf su ve %5'lik NaCl çözeltisi farklı aralıklarla ve farklı tekrarlamalarla kanal içerisine bırakılarak, tasarlanan algılayıcı sistemin kanal içerisinden akıtılan sıvıların değişen kırınım indislerindeki ufak oynamalara verdiği cevaplar tespit edilmiştir.



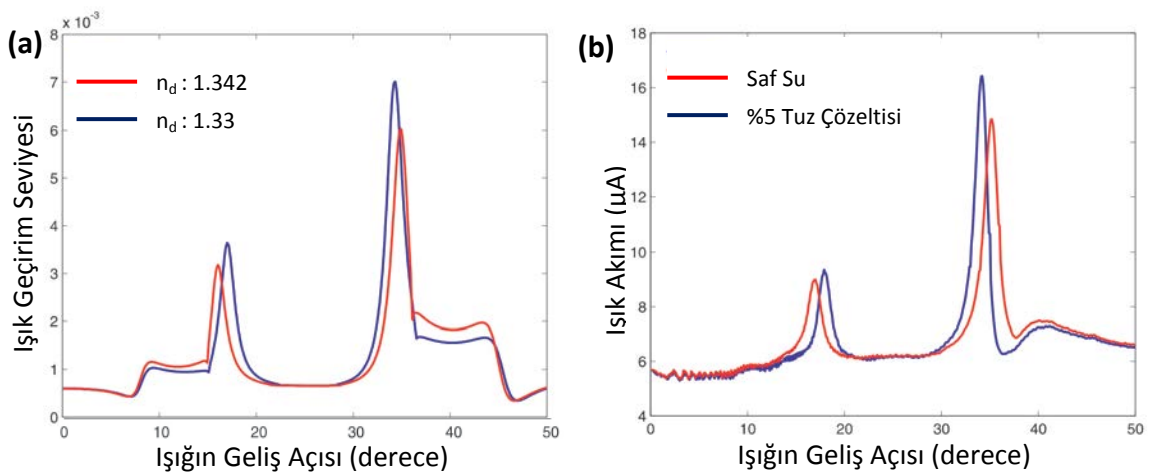
Şekil 4.13 Algılayıcı mekanizmanın PMMA'den yapılmış bütünlüştürme akışkan kanalı ve giriş/çıkış borulamalarıyla çekilmiş fotoğrafı.

4.3.4 Sıvı Akış Sistemi İçerisinde Plazmonik Rezonans Ölçümleri

Keskin ve güçlü rezonans eğrileri oluşturacak şekilde kırınım ağı profillerinin optimizasyonu tamamlandıktan sonra bir sıvı-akış kanalının sisteme bütünlüştürülmesiyle, mekanizma kırınım ağı eşlemeli plazmon rezonansına dayalı biyo-moleküler bir algılayıcı sisteme dönüştürülebilmektedir. Bu tip biyo-algılayıcılar sıvı ortamlardaki derişim değişimlerinden kaynaklanan, ortamın kırınım indisindeki ufak farklılaşmaları ölçmeye dayanarak işlev görmektedir. Böyle bir algılayıcı mekanizma, kendisine akışkan bir kanal ve düzlemsel bir foto-diyot tabanı bütünlüştürülmüş haliyle Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te görülmektedir.

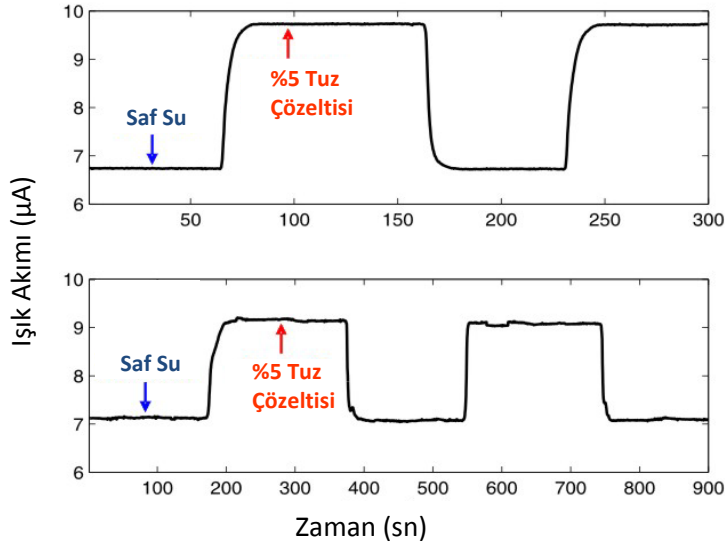
RCWA kullanarak optimize edilmiş kırınım ağlarının akışkan kanal içerisindeki geçirim (transmisyon) spektrumu simüle edilebilmektedir. Sıvı ortamlar saf su ve %5'lik NaCl çözeltisi olmak üzere 633 nm'lik dalgaboylu ışık kaynağı ile çalışıldığı durumda kırınım indisleri sırasıyla 1.33, 1.342 değerlerini göstermektedir. Aygıtın hesaplanmış olan bu

geçirim seviyesi (transmitivitesi) Şekil 4.14 (a)'da ışığın gelme açısının bir fonksiyonu olarak verilmiştir. Veriler farklı iki sıvı ortam içerisinde meydana gelen plazmonik rezonans eğrilerindeki ufak kaymaları göstermektedir. Transmitivite ve ışık-akımının yüzey plazmonlarının yaratılmasında birbirine eş nicelikler olduğu göz önünde bulundurulduğunda, Şekil 4.14 (b)'de verilen, algılayıcı mekanizmanın aynı şartlar altında ışık-akımına olan cevabı, deneysel verilerin, teorik simülasyon verileriyle çok iyi bir şekilde örtüştüğünü ortaya koymaktadır.



Şekil 4.14 (a) Farklı kırma indisi olan iki farklı sıvı için, aygıtın transmitivitesinin ışığın gelme açısının fonksiyonu olarak hesaplanmış hali, (b) Işık-akımının saf su (DI water) ve %5'lik NaCl çözeltisine verdiği cevabın ışığın gelme açısına bağlı olarak ölçümü.

Sonrasında algılayıcı sistemin cevabı bir sıvı-akış sistemi içerisinde gözlemlenmiştir. Algılayıcı sistemin kararlılığını, hassasiyetini ve tekrar edilebilirliğini denemek üzere iki farklı sıvı (saf su ve %5'lik NaCl çözeltisi) rastgele aralıklarla değişimli olarak kanal içerisinden akıtılmıştır. Kanal içerisine değişimli olarak bu sıvıların bırakıldığı anlarda kırınım indislerindeki ufak değişimlerin, algılayıcı tarafından ışık-akımında meydana gelen eş zamanlı değişimler olarak tespit edildiği Şekil 4.15 (a)'da verilmektedir. Algılayıcı, sıvıların değiştiği anlarda oldukça memnun edici bir tekrarlanabilirlik sergilemekte ve dayanak çizgisi üzerinde herhangi bir kayma oluşmayacak şekilde net bir kararlılık göstermektedir. Sıvı değişimlerine ikinci harmoniğin rezonans pikinin verdiği cevap da Şekil 4.15 (b)'de görüldüğü üzere birinci harmonikte görülene benzer şekilde oldukça tatmin edici bir davranış sergilemektedir.



Şekil 4.15 Algılayıcı mekanizmanın değişen sıvılara maruz kaldığında birinci dereceden (a) ve ikinci dereceden (b) rezonans pikleri etrafında sergilediği davranışlar.

Sıvı değişiminden kaynaklanan kırma indisi değişimleri etkili bir şekilde ölçülerek, çok iyi derecede tekrarlanabilen ve kararlı bir sensor cevabı olan, $2.2 \times 10^{-8} RIU / \sqrt{Hz}$ mertebelerindeki gürültü sınırlı teorik hassasiyet değerine kıyasla $6.3 \times 10^{-6} RIU / \sqrt{Hz}$ seviyesine eşdeğer bir kırma indisi gürültüsü hesaplanmıştır [68].

AKIŞ SİSTEMİ, ALGILAYICI TABAN ve BÜTÜNLEŞTİRMEYE YÖNELİK İLERİ ÇALIŞMALAR

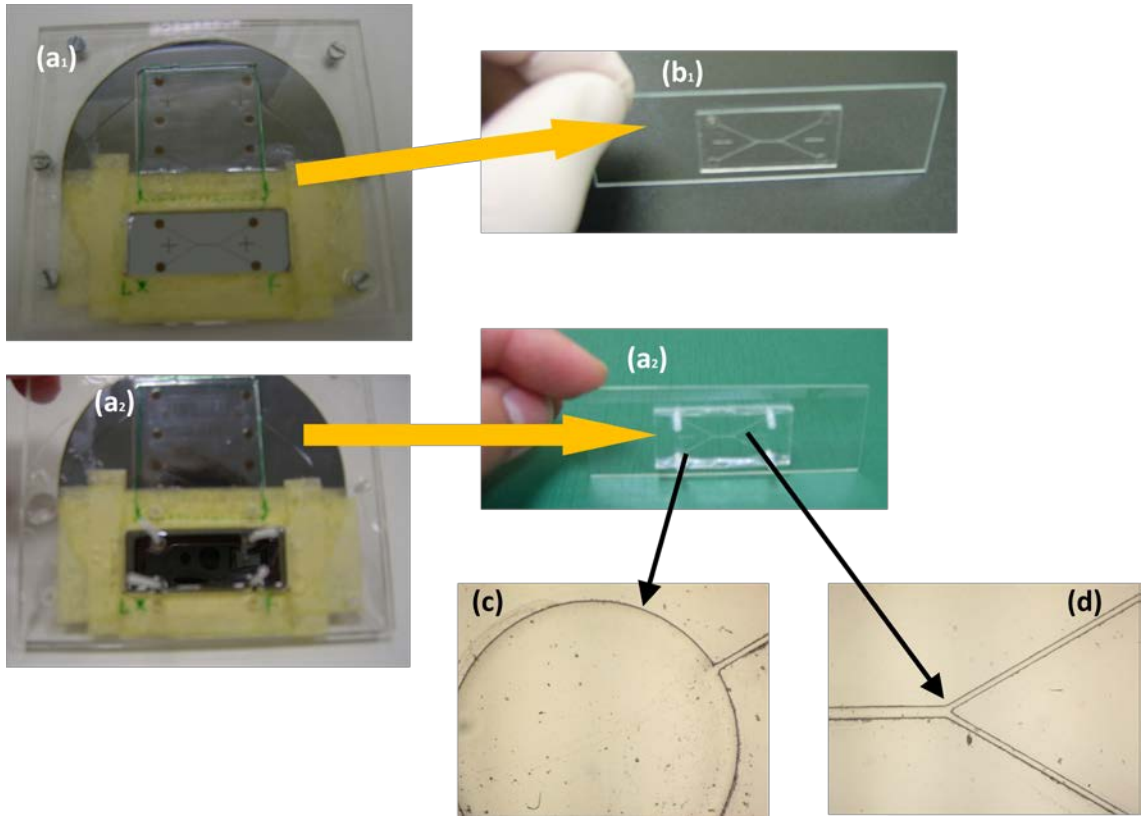
“Yüzey Plazmon Rezonansı prensibine dayalı biyosensör tasarımı” konulu doktora tezi çalışmasının sonlandırılması öncesi faaliyetlerin anlatıldığı bu bölümde, bahsi geçen biyosensörün yapacağı hassas optik algılamalarda kullanılabilecek olası uygulama alanları denenmekte ve bunların deneylerinden bahsedilmektedir. Bütünleşik algılayıcı mekanizmanın kabiliyetlerini sınamak maksadıyla kinetiği önceden değişik yöntemlerle çalışılmış örnek bir ‘*DNA hibridizasyonu algılama*’ çalışması yapılmaktadır. Farklı yoğunluklarla yapılan karşılaştırmalı deneylerin ölçüm sonuçları ve deney sonucunda elde edilen farklı yüzey immobilizasyonlarının aletsel değerlendirmeleri ortaya konulmaktadır. Farklı yoğunluklarla yapılan karşılaştırmalı deneylerin ölçüm sonuçları ile akış-hücre ve mikro-akışkan kanal kullanılarak tekrarlanan aynı tip deney ölçüm sonuçları kıyaslamalı olarak sunulmaktadır.

Ayrıca sisteme bütünleştirilmiş akış-kanalı yapısının hem makro hem de mikro ölçeklerde tasarım ve uyarlama faaliyetlerinin ileri aşama çalışmalarından bahsedilmektedir.

5.1 Mikro Ölçekli Akış Kanalı Oluşturulması

Çalışmanın biyomoleküler etkileşim deney aşamalarında kullanılmak üzere fotolitografik olarak maskelenerek PDMS malzemesiyle kalıplanarak tasarlanmış ve borulaması yapılmış ilk mikroakışkan kanal yapısı denemesi Şekil 5.1’de verilmektedir. Kullanılacak biyolojik örneklerin sarf miktarını asgari seviyede tutmak ve aynı zamanda

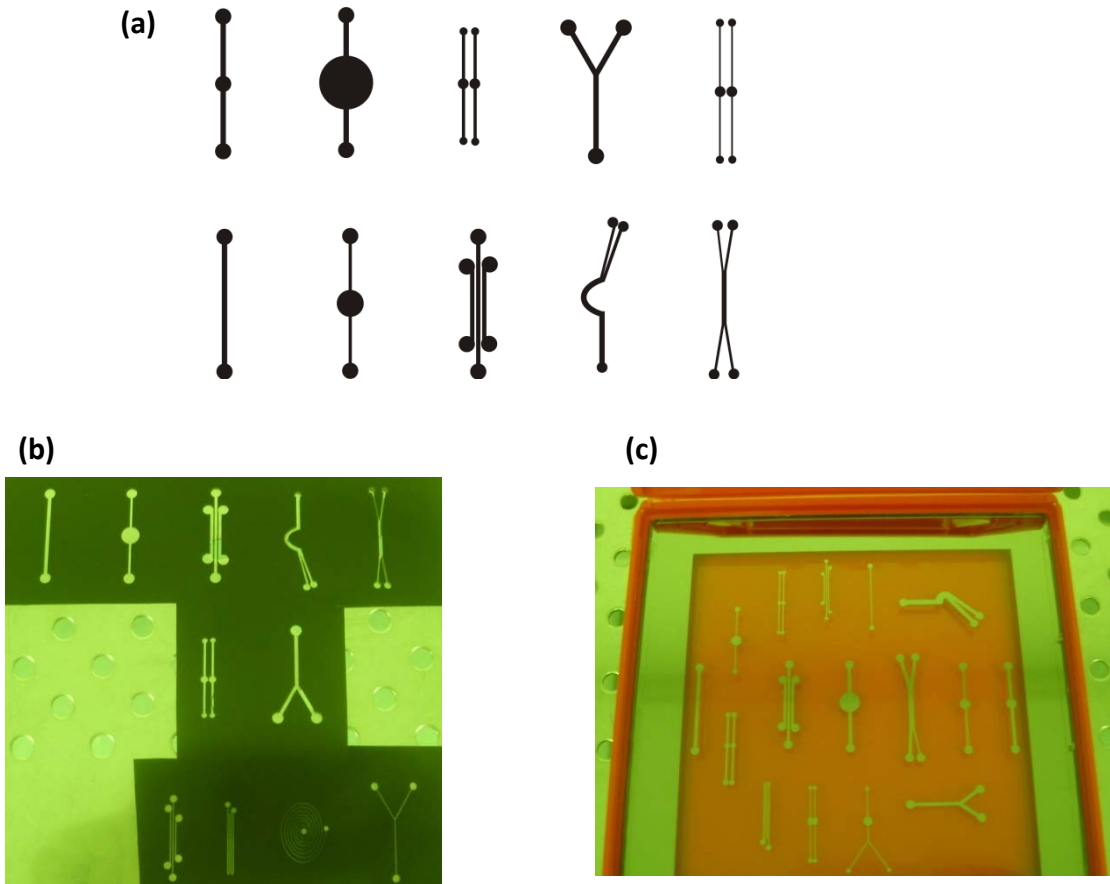
da etkileşim süresini mümkün olabildiğince kısaltabilmek gayesiyle mikroakışkan kanalların devreye sokulması çalışmaları hızlanarak yaygınlaşmaya başlamıştır [69, 70]. Fotolitografik maskeleme ile fotorezist malzemeden şekillendirilen kanal geometrisinin pozitif deseni, Şekil 5.1’de gösterildiği üzere kanal borulamaları yapılarak (Şekil 5.1 – a₁) ve yapılmadan (Şekil 5.1 – a₂) PDMS ile kalıplanmıştır. Çalışmanın bundan sonraki biyoetkileşim deneylerinde kullanılmak üzere farklı fotorezist malzemeler kullanılarak kanal derinliğinin istenilen boyutlara indirilebildiği değişik geometrilerde mikroakışkan kanallar üretilebileceği anlaşılmıştır.



Şekil 5.1 Mikroakışkan kanal tasarım ve üretimi - (a1), (a2): Fotolitografi maskesinden kalıp hazırlanması, (b1), (b2): Hazırlanmış kalıplardan çıkartılan mikroakışkan PDMS kanallar, (c), (d): Mikroakışkan kanalın boru giriş haznesi ve kanal geometrisi (60 mikrometre derinlik).

5.2 Uygun Kanal Tasarımının Oluşturulması

Okuma yapılacak alanın kapladığı geometrik pozisyona ve içerisinde geçecek sıvının istenilen akış doğrultuları göz önünde bulundurularak çeşitli şekil ve ölçülerde tasarımlar vektörel grafik oluşturmaya izin veren standart bir paket çizim programı yardımıyla Şekil 5.2 (a)'da gösterildiği üzere oluşturulmuş ve bu desenler litografik baskılama yapılabilmesi amacıyla yüksek çözünürlükte (3600 dpi) Şekil 5.2 (b)'de görüldüğü şekliyle asetat kağıdı üzerine çıktılanmıştır.



Şekil 5.2 (a) Grafik programıyla oluşturulmuş çeşitli kanal desenleri, (b) Kanal desenlerinin yüksek çözünürlükte asetat kağıdı üzerine çıktılanmış halleri, (c) Desenlerin maske yazıcısı kullanılarak cam bir tabna üzerine kromdan şekillendirilmiş halleri.

İstenilen kanal desenlerinin Şekil 5.3'teki maske hizalayıcısı yardımıyla uygun bir taban (cam veya Si-alttaş) üzerine geçirilerek desen kalıplarının oluşturulabilmesi için karakterize edilmesi gereken bir takım prosesler bulunmaktadır. Litografi işlemi sırasında uygulanacak olan pozlama enerjisinin miktarı desenlerin ne pürüzsüzlükte ve çözünürlükte istenilen tabana geçirileceğini belirlediğinden, bu parametrenin optimizasyonu büyük önem taşımaktadır.



Şekil 5.3 Maske Hizalayıcısı: Hazırlanmış desenlerin kalıp tabanına fotolitografik olarak geçirilmesi işlemi. Pozlama dozları: 1500mJ - asetat üzeri desenli (Şekil 5.2 - b), 150mJ - cam üzeri krom desenli (Şekil 5.2 - c).

5.3 Mikro-Akışkan Kanalin Üretimi

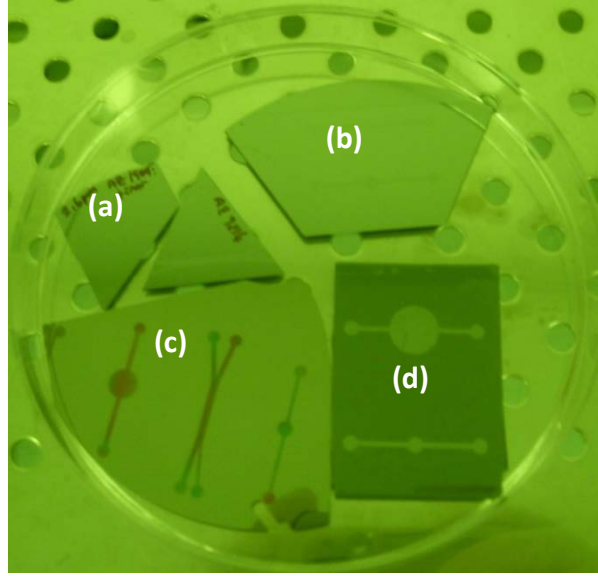
Mikro-akışkan kanal üretimi sırasında optimize edilmesi gereken başlıca parametreler arasında kanalın derinliği ve düzgün bir şekilde asgari pürüzlülük ile kalıplanabiliyor olması yer almaktadır. Bu nedenle litografi ile şekillendirilecek olan ışığa duyarlı fotorezist (PR) malzemenin seçimi ve uygulama reçetesi hayati önem taşımaktadır.

Kanal desenlerinin kalıplarının oluşturulması aşamasında aşağıdaki farklı yöntemler, çeşitli reçeteler uygulanarak defalarca denenerek en uygun kalıp elde edilmeye çalışılmıştır. Öncelikle bilgisayar ortamında çizilen grafiksel desenlerin uygun bir yüzeye geçirilmesi gerekmektedir.



Şekil 5.4 (a) Döndürerek kaplama yapan cihaz,
(b) Isıl olarak PR malzemeyi sertleştiren ısıtıcı plakalar.

Seçilen tabanlara uygulanan temizlik işleminden sonra, kullanılacak olan PR malzemesinin Şekil 5.4 (a)'daki kaplayıcı kullanılarak taban üzerine damlatıldıktan sonra yüksek hızda döndürülerek yayılması yöntemiyle kaplanması işlemi gerçekleştirilmektedir. İlk olarak bu işlem sırasında istenilen et kalınlığına ulaşılabilmesi için (kanal içerisinden örneklerin standart hızlarda akabilmesi için birçok bilimsel çalışmada 70-90 μm olarak optimize edilmiş kanal derinliği göz önünde bulundurularak) [71, 72, 73] PR malzemesinin hangi hızda, ne süreyle, hangi ivmelenmeyle ve kaç adımlı olarak kaplanacağı optimize edilmiş ve sonrasında da kaplanan PR malzemesinin Şekil 5.4 (b)'deki ısıtıcı plakalar kullanılarak hangi sürelerde sertleştirilerek fotolitografi uygulamasına geçiş yapılması gerektiği optimize edilmiştir. Uygulanan farklı protokol parametreleri sonrasında farklı et kalınlıklarına ulaşan, 4 farklı türde PR malzemesi (AZ 1505, AZ 4533, AZ 5214, SU-8) farklı reçeteler dahilinde defalarca denenerek (Şekil 5.5) en uygun kalınlığa SU-8 (Şekil 5.5 - d) ile ulaşıldığı saptanmıştır.



Şekil 5.5 (a) AZ 1505, (b) AZ 4533, (c) AZ 5214 ve (d) SU-8 PR malzemeleri ile denenmiş çeşitli Si-altaş kalıp örnekleri.

Optimizasyon aşamasında desenlerin oluşturulması için ayrıca, taban olarak iki farklı malzeme denenmiştir. Desenler için uygun PR malzemesi seçildikten sonra fotolitografi ile istenilen tabanlara geçirilmesinden sonra yapılması gereken şey, aşındırma tekniğiyle (optimizasyon denemeleri sırasında hem ıslak hem de kuru aşındırma teknikleri uygulanmıştır) bu desenlerin yapısal mükemmeliyetlerinden olabildiğince asgari seviyede ödün vererek istenilen derinliğe ulaşılmasıdır.

5.3.1 Pyrex Cam Üzerinde PR Şekillendirilmesi

Kullanılacak olan yüksek kristal saflığa sahip pyrex camların temizlik işlemleri tamamlandıktan sonra (piranha çözeltisi olarak bilinen 3:1 oranında Hidroflorik Asit:Hidrojen Peroksit dolu cam behere daldırıp sonikatör içerisinde bekletme, sırasıyla aseton ve İzopropilAlkol (IPA) çözeltileriyle yıkama ve azot gazı ile kurutma) Şekil 5.2 b ve c'deki desen maskeleri kullanılarak, Şekil 5.3'teki maske hizalayıcısı yardımıyla desenler litografik olarak PR kaplı pyrex tabana aktarılmaktadır. Şekil 5.6'da bu işlemler sonrasında oluşturulan desenlerin istenilen kanal derinliğine ulaşabilmesi için HF (Hidroflorik Asit) ile ıslak aşındırmaya bırakılmış denemesi görülmektedir. HF ıslak aşındırması ile pyrex cam tabanı istenilen derinlik ve hatta daha fazlası oranında aşındırılabilmesine rağmen bu işlemin kontrolü ve tekrarlanabilirliğinin oldukça düşük

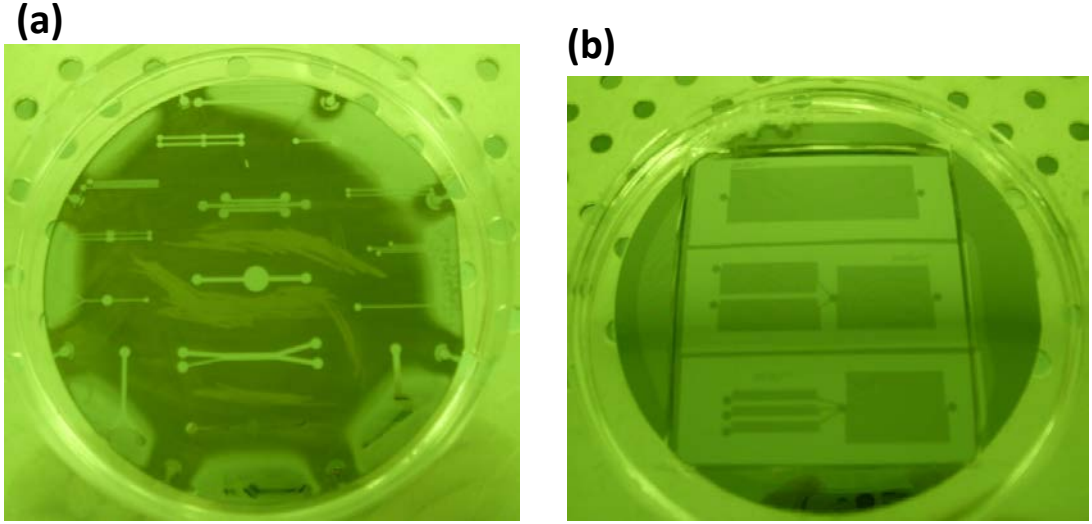
olduğu tespit edilmiştir. Kontrolde en ufak sapmalarda dahi şekilde görülebildiği üzere desenler de kabul edilemeyecek derecede bozulmalar meydana gelebilmektedir.



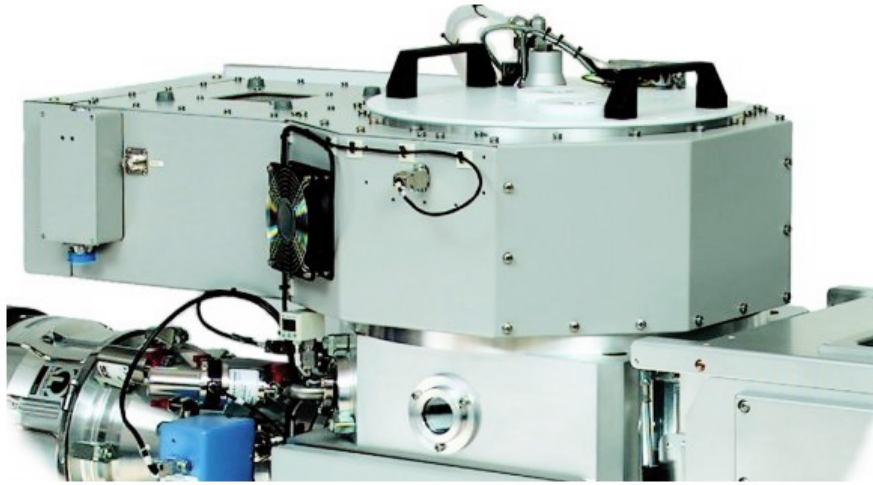
Şekil 5.6 Pyrex cam üzerine aktırdıktan sonra HF ile ıslak aşındırma işlemine sokulmuş örnek.

5.3.2 Si-Alttaş Üzerinde PR Şekillendirilmesi

İkinci alternatif olarak Si-alттаş tabanlar kullanılmış, farklı PR malzemeleri ile bu tabanlar kaplanılmış ve sonrasında da optimizasyon amacıyla hem kuru hem de ıslak aşındırma ile istenilen derinliklere ulaşmaya çalışılmıştır. Şekil 5.7 (a), Şekil 5.8’de bahsedilen ICP cihazı kullanılarak kuru olarak aşındırılmış olan bir Si-alттаş tabanı üzerindeki desenlerin durumunu göstermektedir. Kullanılan gazların seçici olarak PR malzemeyi aşındırıp Si tabanı yemeye başlamakla beraber (ki bu zaten istenen durumdur), önlenemez bir şekilde Si tabanını yakarak temizlenemeyen kurumsu bir tabaka oluşturduğu gözlemlenmiştir. Aşındırma işlemi sonrasında istenilen derinliklere ulaşılabilmiş olmasına rağmen, cihazın kullandığı çoklu gazların karışım oranlarının, kullanım sürelerinin ve uygulanan gücün ayarlanması gibi aygıt parametrelerinin optimize edilebilmesi için başlı başına apayrı bir araştırma yapılarak çok uzun süreli denemeler gerektireceği anlaşılmış ve bu yöntem terkedilmiştir.



Şekil 5.7 (a) Pyrex cam üzerine aktarıldıktan sonra ICP cihazında kuru aşındırılmış taban örneği, (b) Si-altaş üzerine desenler aktarıldıktan sonra SU-8 film banyosu solusyonu ile ıslak olarak aşındırılmış taban örneği.

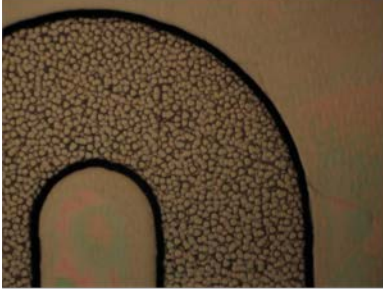


Şekil 5.8 İçerisine bırakılan Si tabanlı malzemeyi seçici olarak, SF₆ (Sülfür hegzafloşit), CF₄ (Tetraflorametan), Ar, H₂, O₂, ve N₂ gazlarının karışımını plazma ortamında indüktifleyerek kuru aşındırma yapan ICP (Inductively Coupled Plasma) cihazı.

Şekil 5.7 (b)'de ise Si-altaş taban üzerine kaplanan Su-8 PR malzemesinin litografik olarak şekillendirildikten sonra, SU-8 film banyosu çözeltisi ile ıslak olarak aşındırılmış hali gösterilmektedir.

5.3.3 Sonuçlar

Bahsi geçen kanal denemeleri neticesinde ortaya çıkan yapıların optik mikroskop görüntü ve ölçümleri aşağıdaki ekil 5.9’da sergilenmektedir.



Cam tabanda ıslak aşındırma



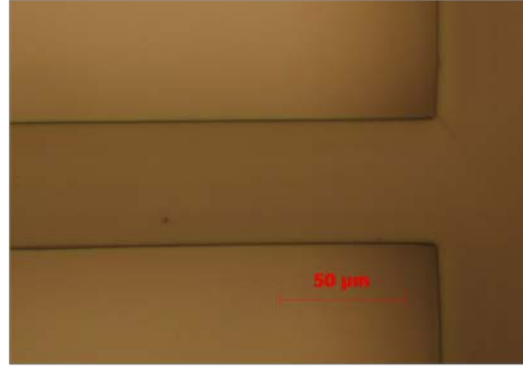
Si-altta tabanda ICP ile kuru aşındırma - 50 μm derinlik



ICP aşındırma sonrası PR ile yumuatılmış yüzey



Si-altta zeri SU-8, ıslak aşındırma – 60 μm derinlik



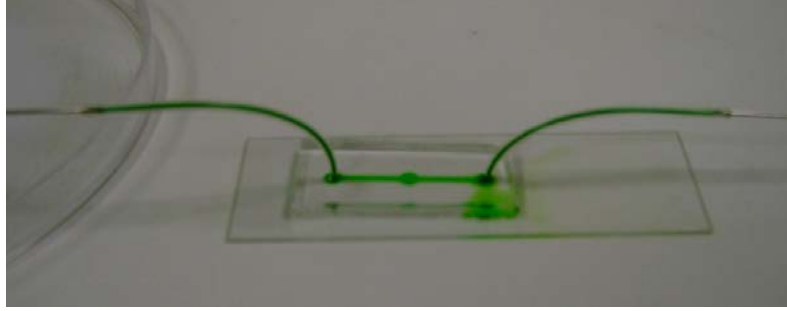
Si-altta zeri SU-8, ıslak aşındırma – 80 μm derinlik

Şekil 5.9 Mikro lekli akış kanalı oluşturma denemelerinden alınan sonuçlar.

Sonuç olarak, takip edilen işlem ve protokollerin optimizasyonundan sonra istenilen derinlik ve dzgnlkteki kanal yapılarının SU-8 PR malzemesi kullanılarak daha zahmetsiz ve tamamen kontrollü ve tekrarlanabilir bir şekilde retilebildiğı ortaya çıkarılmıştır.

5.4 Mikro-Akışkan Kanalı Tabana Bütünleştirilmesi

Mikro-akışkan kanal istenilen desen dahilinde Si-alıttaş üzerinde oluşturulduktan sonra, şekil 5.7 (b)'te verildiği üzere, ortaya kalıplanarak defalarca kullanılmaya hazır bir ana kalıp çıkmaktadır. Bu kalıp üzerine reğinensi özelliikte olup ısıı işleme tabi tutulduktan sonra sertleşen polimerik bir malzeme olan PDMS (polidimetilsiloksan) dökölerek, akış kanalları kullanıma hazır hale getirilmektedir. şekil 5.10'da PDMS kullanılarak kalıplanmış ve kesilmiş çalışır durumda bir mikro-akışkan kanalı örneği verilmiştir.



şekil 5.10 İçinden yeşil boyar maddeli sıvı geçirilmiş örneğ bir akış-kanalı.

Bu aşamadan sonra, kanalın algılayıcı sisteme bütünleştirilebilmesi için tamamlanması gereken iki önemli adım daha bulunmaktadır. Birinci adım, sıvı giriş-çıkış deliklerinin açılarak mikro-makro eşlemenin yapılacağı borulama sisteminin oluşturulmasıdır. Bunun için yumuşak polimerik malzemede istenilen çaplarda (0.5-2mm arası) kusursuz delikler açabilen şekil 2.3.2 (a)'daki mekanik bir delgeç aletine gereksinim duyulmaktadır.

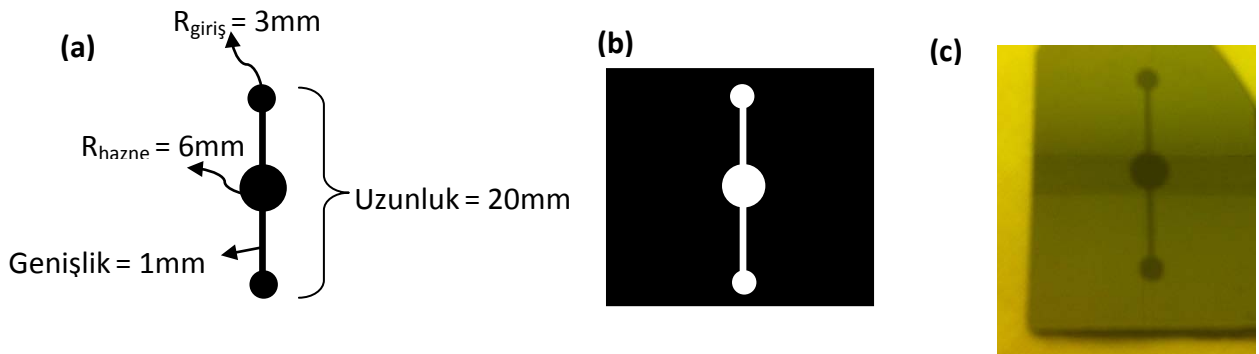


şekil 5.11 (a) Mekanik delgeç aleti, (b) Oksijen plazma cihazı.

Kanalın borulama sistemiyle beraber yapılandırılmasından sonra sıra, kanal yapısının kullanılacak olan tabana geri-dönüşsüz bir şekilde tutturulmasını gerektiren ikinci adıma gelmektedir. Oldukça problematik olan bu işlem, kullanılan cam tabanın ve polimerik özellikte olan PDMS kanal yapısının bağ yapılarını birbirlerini bir daha bırakmamak üzere modifiye eden çok kısa süreli bir oksijen plazma uygulaması (Şekil 5.11 - b) ile gerçekleştirilmektedir.

5.5 Kanal Tasarımının Optimizasyonu

Yüzey plazmonlarının uyarılabilmesi için uygulanması gereken belirli bir dalgaboyundaki ışık kaynağının (632 nm görülebilir kırmızı ışık) algılayıcı yüzey üzerinde oluşturacağı yaklaşık 3mm çapındaki aydınlanma bölgesi göz önünde bulundurularak, bu aktif algılama alanının tamamını kapsayacak şekilde bir akış yolu oluşturabilmek amacıyla üretilecek olan mikro-kanal için Şekil 5.12 (a)'daki geometri uygun görülmüştür.



Şekil 5.12 Optimize edilmiş olan mikro-kanal yapısının

(a) Geometrisi, (b) Hazırlanmış maskesi, (c) Fotolitografi ile şekillendirilmiş hali.

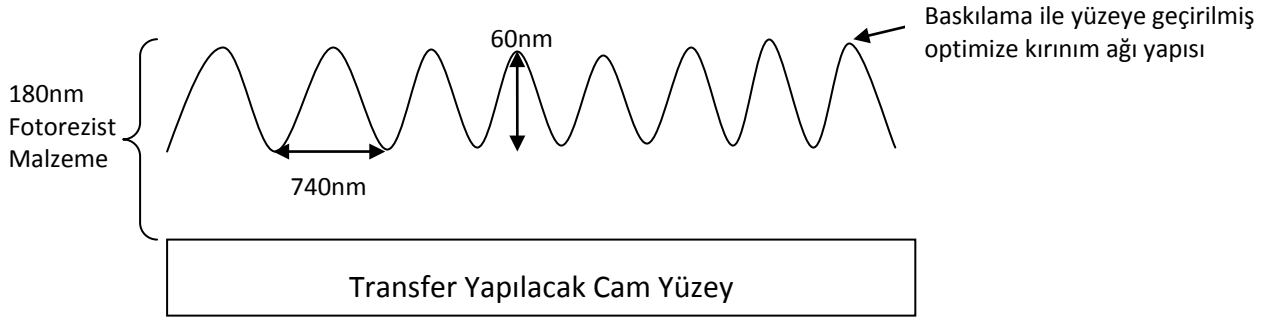
Şekil 5.12 (b)'de fotolitografi maskesi olarak çizilmiş ve 3600 dpi yüksek çözünürlükte astetat kağıdına çıktılanmış kanal deseni görülmektedir. Mikro-kanal deseni, SU-8 3050 fotorezist malzemesi kullanılarak istenilen desen derinliğine ulaşabilmek için çeşitli kaplama protokolleri denenerek optimize edilmiştir. Sonuç olarak kanal içerisinden geçirilecek olan moleküllerin rahat akışını sağlayabilecek ideal bir derinlik olan 80µm seviyelerine ulaşmak için, SU-8 fotorezist malzemesi bir alttaş parçası üzerine 50sn

500rpm'de ve 50sn 2000rpm'de iki adımda yüksek hızda döndürülerek kaplanmış, 15dk kademeli olarak 90-95-100 derecede fırınlama yapılarak litografi prosesine hazır hale getirilmiştir. Şekil 5.12 (b)'deki asetat maskesi kullanılarak 2000mj'lük bir pozlama yapılmış, sonrasında 95 derecede 3dk süresince son fırınlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Deseni ortaya çıkarmak için SU-8 fotorezistine uygun desen geliştirici kimyasal 1:1 su ile seyreltilerek 10dk'lık işlem sonrasında Şekil 5.12 (c)'deki desen elde edilmiştir.

5.6 Kırınım Ağı Yapısının Kopyalanarak Cam Yüzeye Geçirilmesi

Kırınım ağı yapılarının en uygun plazmon uyarımını gerçekleştirecek şekilde nasıl optimize edildikleri önceki bölümlerde anlatılmıştı. Bu yapıların optimize edilmiş geometrik yapılarının cam yüzeylere transfer edilmesi amacıyla başka bir takım optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. ICP (Inductively Coupled Plasma) kullanılarak yapılan kuru aşındırma yöntemi sırasında kullanılan gazların aşındırılacak olan yüzeylerdeki seçiciliği optimize edilmiş ve 35 nm derinliğine sahip optimum kırınım ağı yapılarının cam yüzeyine geçirilebilmesi için 60 nm derinliğe sahip kalıplar hazırlanması gerektiği anlaşılmıştır.

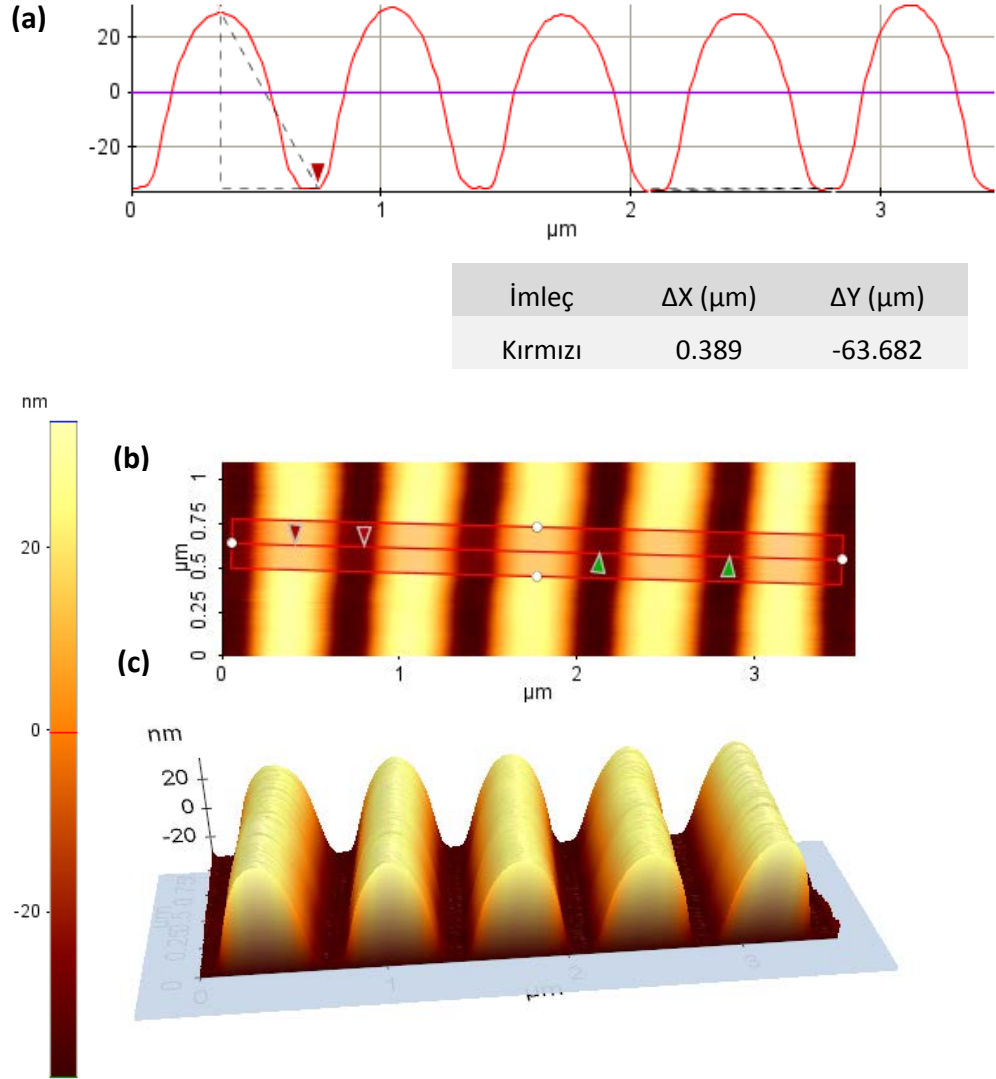
Bu maksatla; kalıplama yapmak amacıyla kullanılan DVD yüzeylerin sahip olduğu kırınım ağı derinliği 4:1 IPA (Isopropanol Alkol) : Aseton karışımı kullanılarak ıslak yöntemle istenilen derinliklere çekilerek PDMS şeffaf polimerik malzemesi kullanılarak kalıplanmıştır. İstenilen derinliklerde hazırlanan bu kalıplar, ICP transferi öncesinde baskılama tekniği kullanılarak bir cam tabanına aktarılmıştır. Şekil 5.13'te ICP öncesi cam yüzeye fotorezist malzeme kullanılarak yapılan baskılama işlemi sonrası yüzeyde oluşan katmanlı yapı resmedilmiştir.



Şekil 5.13 ICP prosesinin metodolojisi

AZ 1505 fotorezist malzemesi 1:1 tinerle seyreltilerek cam yüzeyine yüksek devirde döndürülerek kaplanmış ve ulaşılmış olan kullanıma en uygun polimer kalınlığı Şekil 5.13'te verilmiştir. ICP prosesinde kullanılan gazlardan istenilen derinliklere ulaşmak için en uygun gazın CHF₃ (Carbon Hydro-Trifluoride) olduğu tespit edilmiş ve bu gazın Si (cam) yüzeyini 18 nm/dk, fotorezist malzemeyi ise 31 nm/dk oranlarında anizotropik bir şekilde aşındırdığı gözlemlenmiştir. Bu aşındırma oranları hesaba alındığında cam yüzeyinde 35 nm mertebelerinde bir yapı transferi için 60 nm derinliğine sahip bir kırınım ağı yüzeyinin uygun olacağı yapılan çok sayıda denemeler sonrasında anlaşılmıştır.

Şekil 5.14'te, derinliği ıslak aşındırma yöntemiyle ayarlanmış DVD yüzeyinden çıkarılmış PDMS kalıbın yüzey geometrisi ve AFM ile alınmış yüzey topografisi verilmektedir.

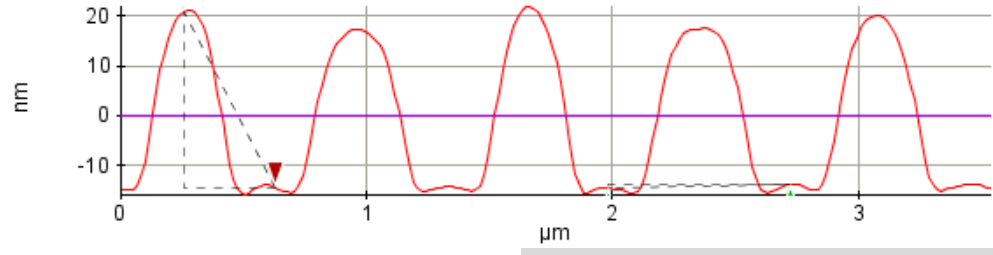


Şekil 5.14 Derinliği ayarlanmış kırınım ağı yapısından çıkartılmış PDMS kalıbının

(a) AFM çizgisel profili, (b) 2D AFM yüzey yapısı, (c) 3D AFM yüzey yapısı.

Yaklaşık 60 nm derinliğe optimize edilmiş bu kırınım ağı yapısının ICP ile cam yüzeyine geçirilmesi sonrasında elde edilen optimum 35 nm derinliğe sahip kırınım ağı yapısının çizgisel ve 3 boyutlu AFM profil yapıları ise Şekil 5.15'te verilmiştir.

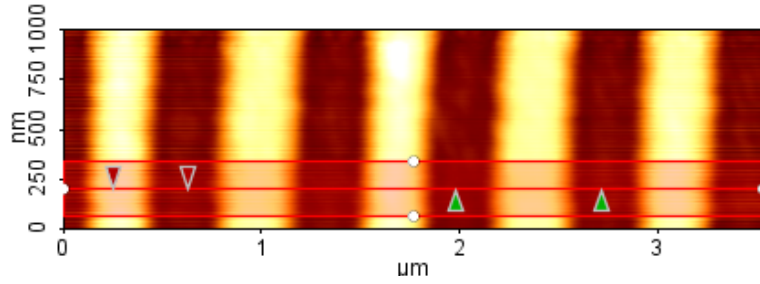
(a)



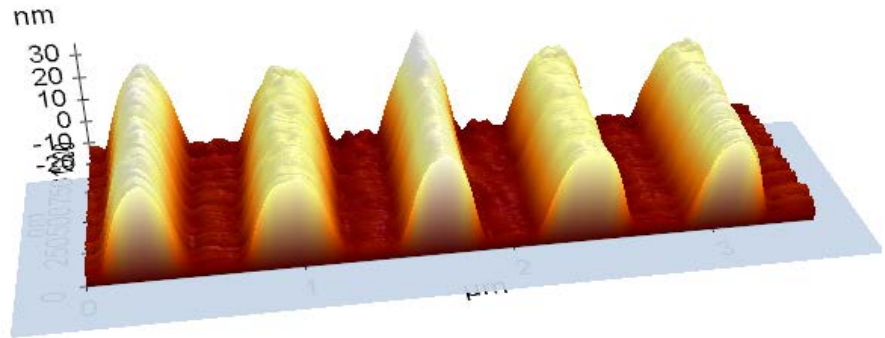
İmleç	ΔX (μm)	ΔY (μm)
Kırmızı	0.370	-35.231



(b)



(c)



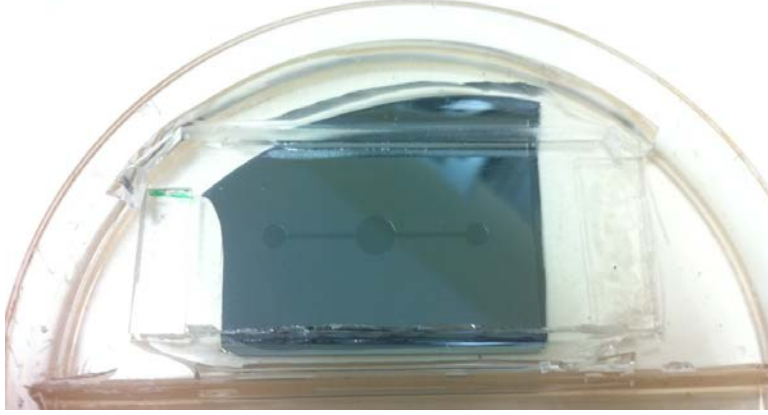
Şekil 5.15 ICP ile cam yüzeyine geçirilmiş kırınım ağı yapısının

(a) AFM çizgisel profili, (b) 2D AFM yüzey yapısı, (c) 3D AFM yüzey yapısı.

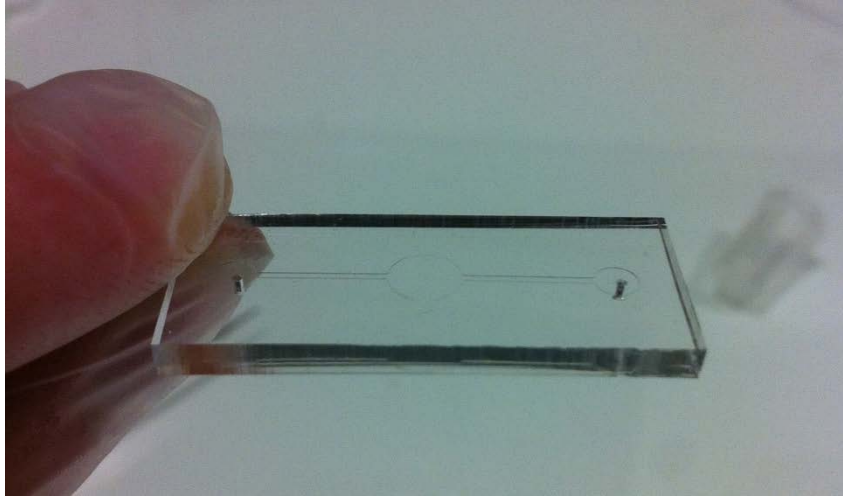
5.7 Algılayıcı Sistemin Bütünleştirilme Aşamaları

Şekil 5.16 (a)'da yüzeyden 70µm yükselen kanal deseni bulunduran alttaşı parçası, bir petri kabı içerisine yerleştirilerek üzerine ağırlık olarak 10:1 ölçeğinde hazırlanmış PDMS ve sertleştirici kimyasal ajanı döküldükten sonra karışım sonrası oluşan baloncuklardan kurtulmak amacıyla vakum uygulanmıştır. PDMS malzemesinin sertleşerek kanal kalıbının şeklini alması için petri kabı içerisindeki örnek 70 derecede 4 saat boyunca fırınlanmıştır. Şekil 5.16 (a) fırınlanma sonrası sertleşen PDMS malzemesini, Şekil 5.16 (b) ise bu malzemedan kesilerek çıkartılan mikrokana1 yapısını, boru giriş/çıkışı amacıyla uçlarına açılan mikro deliklerle birlikte göstermektedir.

(a)

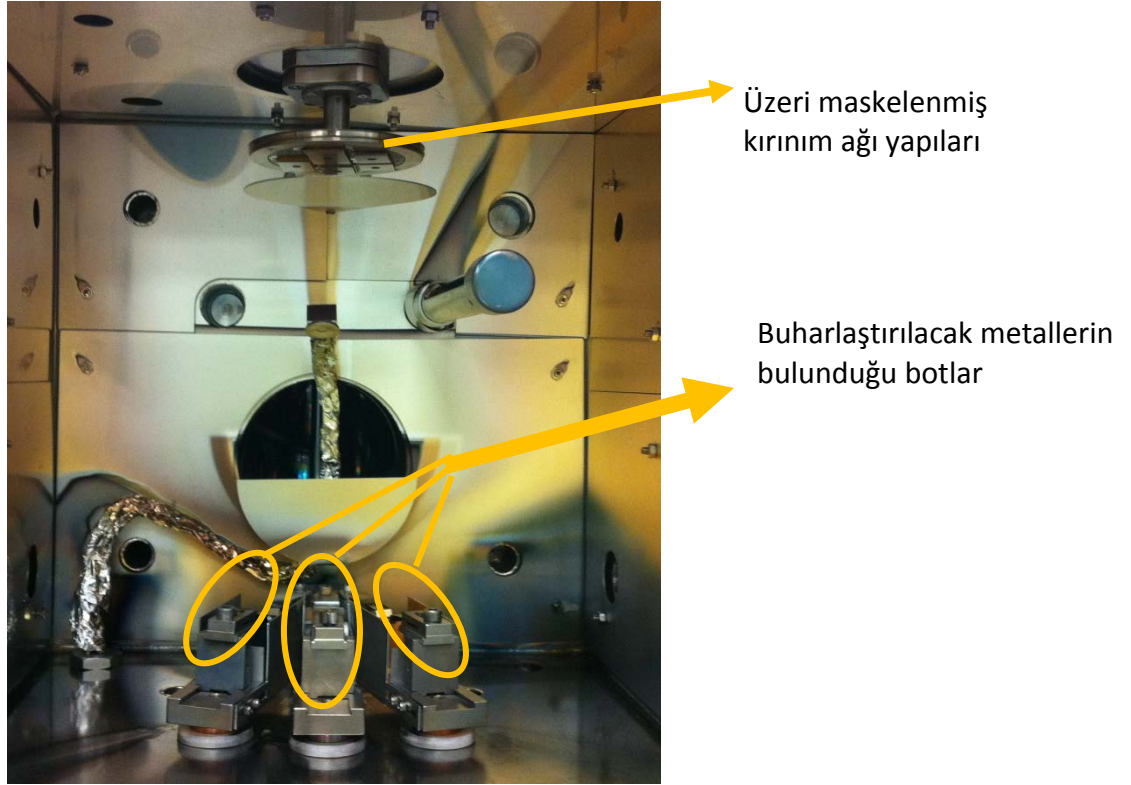


(b)



Şekil 5.16 Mikro-kanal yapısının: (a) Fotolitografi ile şekillendirilmiş olan kalıptan şeffaf PDMS malzemeye geçirilme aşaması, (b) PDMS malzemedan kesilerek kullanıma hazır hale getirilmiş hali.

ICP prosesi ile cam yüzeyine geçirilmiş olan kırınım ağı yapıları, plazmonik algılayıcı olarak kullanılabilmeleri için daha önceki bölümlerde bahsi geçmiş olduğu üzere ince metal film kaplama işlemine tabi tutulmuştur.

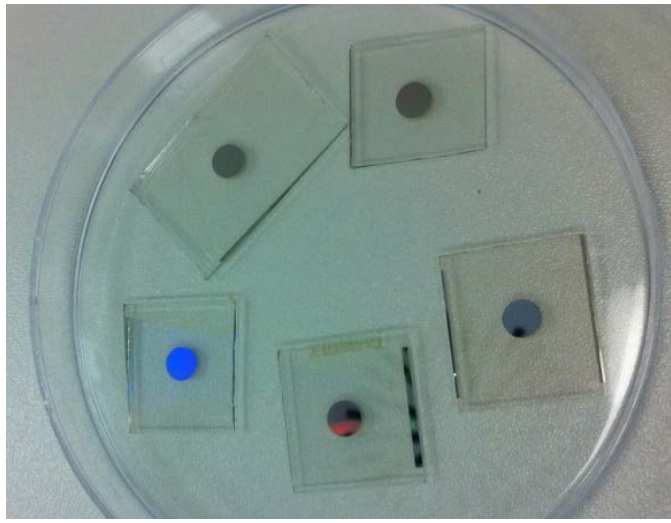


Şekil 5.17 Isıl buharlaştırma cihazının iç odası.

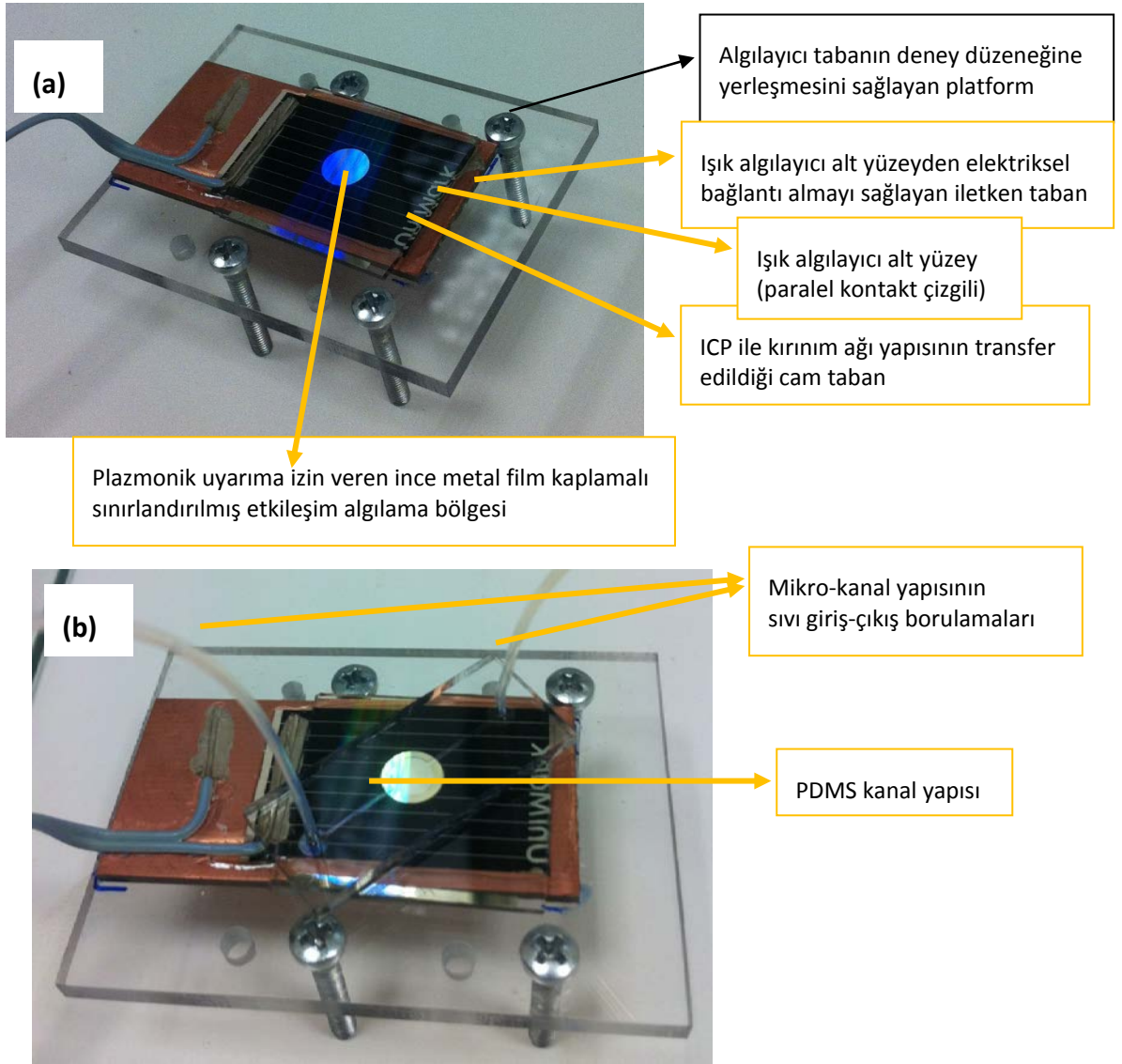
Şekil 5.17’de verilmiş olan ısı buharlaştırma yöntemiyle yapılan üç aşamalı kaplamada sırasıyla 5 nm Krom, 45 nm Gümüş ve 5 nm Altın kullanılmıştır. Krom, ikincil film yüzeyi olan gümüşün cam yüzeyine tutunması amacıyla kullanılmıştır. Ara katman olan gümüş kaplaması yüzey plazmonlarını en keskin şekilde rezonansa girmelerini sağlamaktadır. Son katman olan altın yüzeyi ise akış sırasında algılayıcı yüzey üzerinden geçecek olan biyolojik moleküllerin yüzeye tutunabilmesini mümkün kılmaktadır. Kaplama sonrasında ortaya çıkan algılayıcı yüzeyler Şekil 5.18’de görülmektedir.

Metal kaplı algılayıcı yüzeylerin kanal içerisinde sadece ışığın uyardığı sınırlı bir bölgede etkileşime izin vermesi nedeniyle kaplama maskesi kullanılmıştır. Aynı zamanda bu yöntemle PDMS malzemedен üretilmiş olan kanal yapısı çıplak cam yüzeyine çok daha sağlam bir şekilde oturtulabilmektedir.

Plazmonların uyarılmasını gerçekleştirecek olan kırınım ağı yapısı cama geçirilip üzeri ince metal film kaplanmış olarak, ışık kaynağından gelecek olan ışığı algılayacak olan fotodiyot yapısı üzerine optik uyum sağlayan şeffaf bir yapıştırıcı yardımıyla yerleştirilmiştir (Şekil 5.19 - a). Şekilde kırınım ağı yapısının yansıyan ışıkta yarattığı tayf görülebilmektedir. Cam yüzeyi tamamen bu kırınım ağı yapısıyla kaplı olmasına rağmen sadece mikro-kanal içerisinde etkileşim gerçekleşecek dairesel bölgeye plazmon uyarımını sağlayacak olan ince metal film kaplaması uygulanmıştır.



Şekil 5.18 Cam yüzeyine geçirilmiş kırınım ağı yapılarının ince metal film kaplama sonrası görünüşleri.



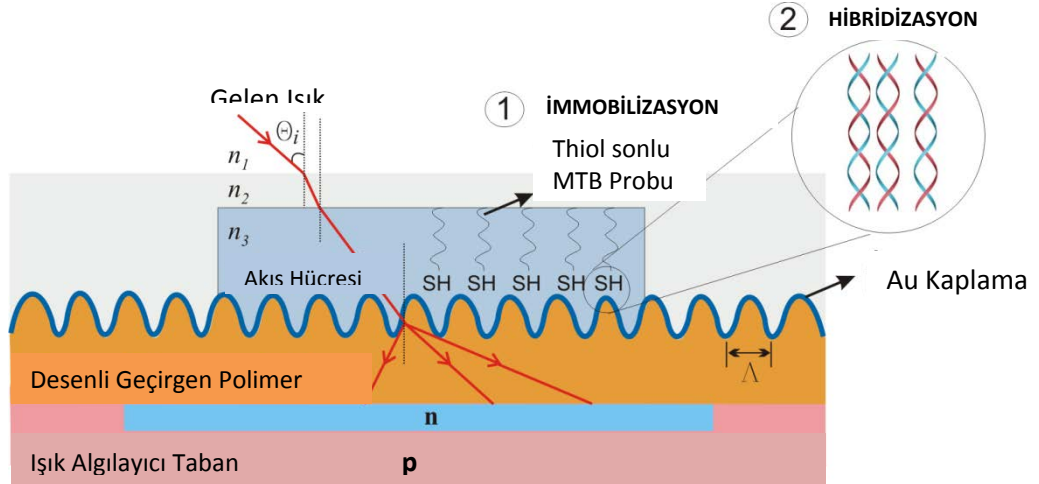
Şekil 5.19 Işık algılayıcı sisteme (a) plazmonik algılayıcı yapının ve (b) mikro-kanallı akış yapısının bütünleştirilmesi.

BİYOMOLEKÜLER ETKİLEŞİM DENEYLERİ

Bu aşamaya kadar yapılmış, önceki tez gelişme ara raporlarında sonuçlandırılarak sunulmuş çalışmaların devamı olarak tasarlanmış olan algılayıcı mekanizmanın etiketsiz bir biyomoleküler bağlanma saptayıcısı olarak kullanılabileceği örnek bir uygulama alanı seçilmiş ve bu konuda Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği ile ortak çalışmalara başlanmıştır. Mycobacterium tuberculosis (MTB) kompleksi üzerine yapılan önceki çalışmalar [74-76] ilerletilerek geliştirilmiş olan bütünleşik algılayıcı mekanizma üzerinde denenmeye başlanmıştır. Dünya sağlık örgütünün (WHO) 2009 küresel tüberküloz kontrol raporunda açıkladığı üzere tüberküloz, 2007 yılı içerisinde 10 milyon doğrudan ve 13.7 milyon dolaylı olmak üzere etkilediği popülasyonla birlikte çok belirgin bir sosyal etki yaratarak geniş çapta yayılma gösteren bulaşıcı bir hastalık olarak tanımlanmaktadır.

6.1 Deney Protokollerinin Oluşturulması

MTB kompleksinin varlığını saptamak amacıyla bütünleşik algılayıcı mekanizma Şekil 6.1'de görselleştirilmiş olan şu işlemler dahilinde hazırlanmaktadır: (1) MTB probleminin uygun yüzey koşullandırılması altında algılayıcı tabana tutturulması aşaması, (2) hedef MTB dizisinin yüzeyden akıtılarak hibridizasyonun gerçekleştirilmesi ve son olarak (3) kontrol amaçlı olarak tüberküloz yaratmayan bakterilerin (mycobacterium gordonae) yüzeye immobilizasyonunun yapılarak oluşacak spesifik olmayan etkileşimin gözlemlenmesi.



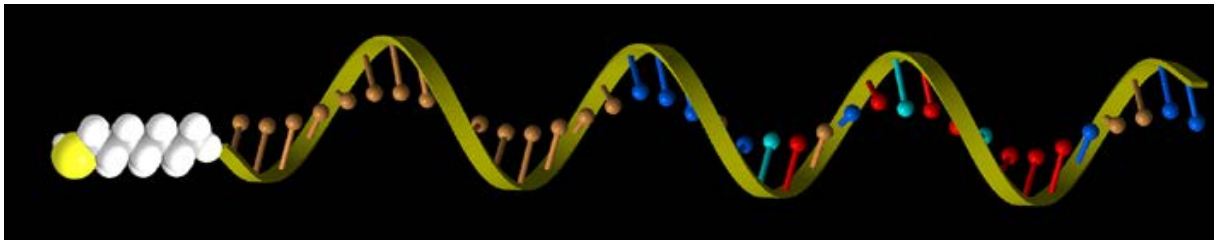
Şekil 6.1 Biyomoleküler etkileşim deneylerinin şematik gösterimi

Tüberküloz hastalığına yol açan bakteri türünün DNA sarmal yapısı içerisinde hastalık yapıcı baz dizilimi seçilerek, bu dizilim sentetik olarak ürettirildikten sonra, algılayıcı yüzey üzerine projenin bu safhasına destek sağlayan grup tarafından önceden geliştirilmiş bir takım protokoller dahilinde yerleştirilmiştir. Algılayıcı yüzeylere, 'prob immobilizasyonu' adı altında yerleştirilen bu yapılar, hastalık yapan bakteri DNA'sının tek sarmal dizilimini içermektedir.

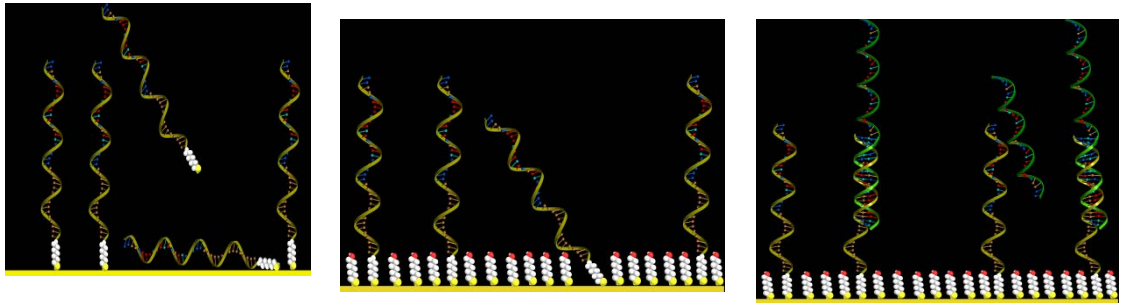
Sonrasında da 'hedef' olarak tanımlanan ve bu bakteri DNA'sının hastalık yapan tek sarmal diziliminin eşleniğini içeren tamamlayıcı bir sarmal yapısını içeren çözeltiler de farklı derişimlerde olmak üzere algılayıcı yüzey üzerinden geçirilmiş ve neticede hangi derişimlerde ne derece algılanabilir etkileşimler ortaya çıkacağı gözlemlenmiştir. Herhangi bir etkileşim yaratmayacağı bilinen başka bir sarmal yapı da kontrol amaçlı olarak aynı yüzeylerden geçirilmiştir.

Bağlanma kinetiğinin gözlenebilmesi için yüzeye tutturulacak olan proplar, algılayıcı YPR yüzeyindeki ince altın filmine tutunabilmeleri için bir thiol sonlandırma grubu taşıyan tek DNA iplikçik yapısına sahip oligonükleotitler (Şekil 6.2) olarak hazırlanmıştır. Hastalık taşıyan hedef MTB kompleksinin eşleneği olan bu proplar yüzeye kendi kendine birleşen katmanlı oluşuma dayanan doğrudan immobilizasyon yöntemiyle (Şekil 6.3 – a) sıvı akışı vasıtasıyla tutturulmakta ve ortamdan geçirilen bloklama ajanı çözeltisiyle iplikçik yapılarına istenilen yerleşme yönelimi (Şekil 6.3 – b)

verilebilmektedir. Bir sonraki adımda ise yüzeye tutturulmuş oligonükleotitlerin tamamlayıcı iplikçik yapısına sahip hedef tüberküloz bakterileri, algılayıcı hassas YPR yüzeyinden akıtılarak her hangi bir hibridizasyon (Şekil 6.3 – c) olup olmadığı gözlemlenmektedir. Sıvı içerisinde oluşan gerçek zamanlı ortam değişimi (yani kırınım indisi değişimleri), gözlemlenen YPR açısında gerçek zamanlı ufak kaymalar olarak kayda geçmekte ve buradan yola çıkılarak bağlanma kinetiği hakkında çıkarımlar yapılabilmektedir.



Şekil 6.2 Yüzeye tutturulan, thiol grubu ile sonlandırılmış tek iplikçikli Mycobacterium tuberculosis (MTB) probu [kaynak: Piskin, E. araştırma grubu]



Şekil 6.3 MTB probunun (a) yüzey immobilizasyonu, (b) bloklama ajanıyla doğru yönelime getirilmesi, (c) hedef eşlenik DNA iplikçik yapısı ile hibridizasyonu.

[kaynak: Piskin, E araştırma grubu.]

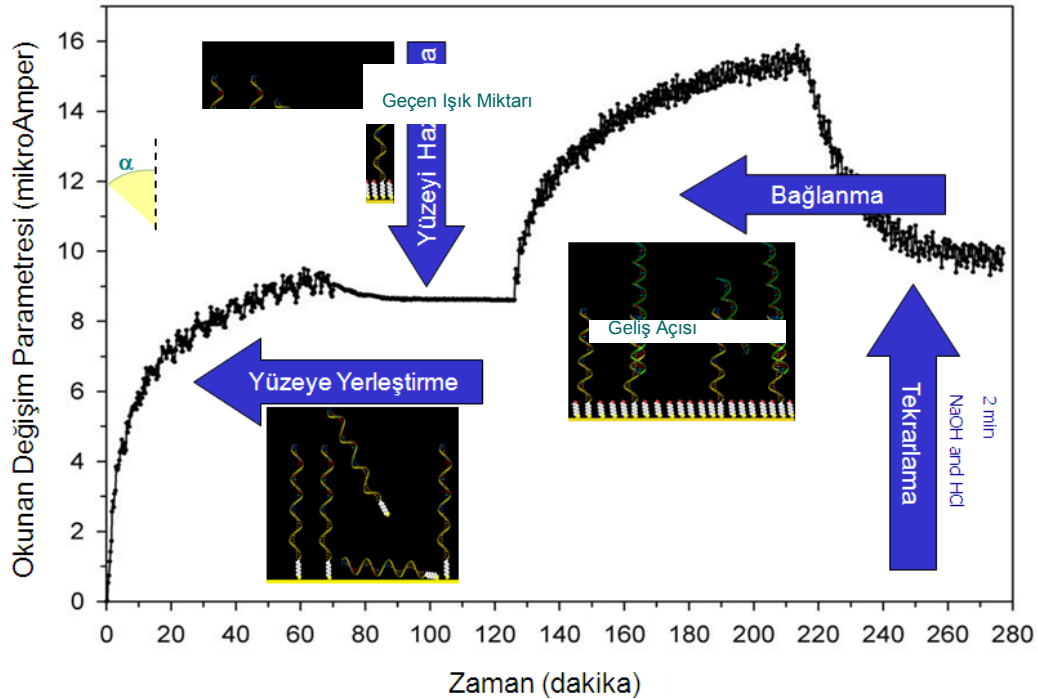
6.2 DeneySEL Etkileşimlerin Algılanma Sistematiği

YPR'ye dayalı hazırlanan algılayıcı bütünleşik sistemin şematik gösterimi ve YPR'ye dayalı algılama metodolojisi Şekil 6.4'te verilmiştir. Biyomoleküler etkileşimleri saptamak üzere hazırlanan algılayıcı sistemin yaptığı okuma çıktısı temel olarak ortam kırınım indisindeki değişimlere bağlı olarak kayan plazmonik rezonans açısındaki ufak oynamalar olarak karşımıza çıkmaktadır. Yansıma açısına bağlı bir değişim izlenmek

istendiğinde karakteristik YPR eğrilerinin dip noktalarında kaymalar gözlenmektedir. Biyomoleküler etkileşimlerin zamana bağlı olarak izlenmesi durumunda ise ortaya algılayıcı sistemin yüzeydeki bağlanma kinetiğine verdiği tepkiyi gösteren SPR sensorgramı çıkmaktadır. Şekil 6.5’ te ise bir YPR dayalı algılama mekanizmasının yüzeyde ölçülmeye çalışılan biyomoleküler etkileşim kinetiğine verdiği karakteristik cevap, daha önce görselleştirilmiş olan MTB prob ve hedef DNA iplikçiklerinin grafik üzerine oturtulması yoluyla somutlaştırılmaya çalışılmıştır.



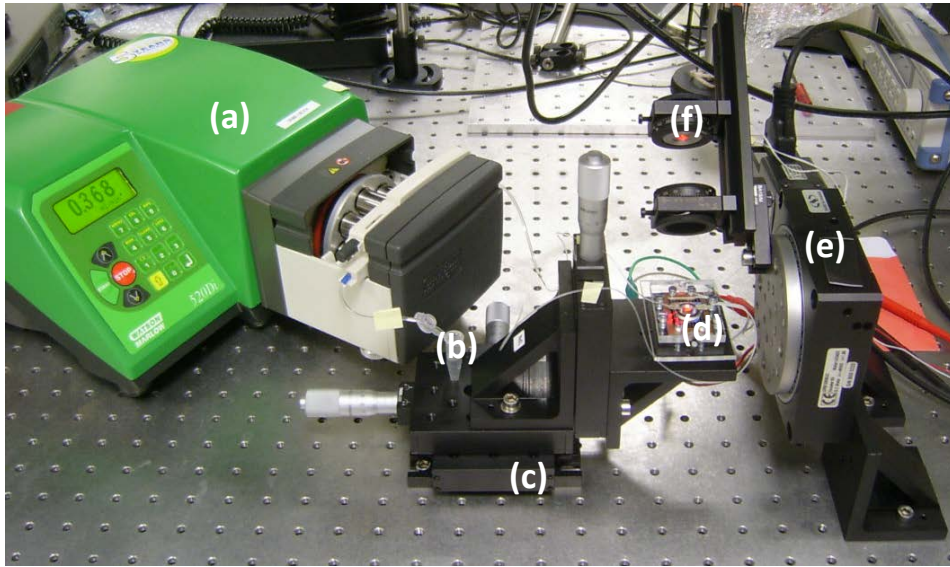
Şekil 6.4 YPR prensibine dayalı karakteristik ölçüm ve algılama metodolojisi.



Şekil 6.5 MTB prob ve hedef kinetiğine YPR algılayıcı mekanizmanın verdiği cevap
 [kaynak: Piskin, E. Araştırma grubu]

6.3 Deney Düzeneği ve Ölçüm Sistematiği

Şekil 6.6’da verilmiş olan deney düzeneği kullanılarak biyomoleküler etkileşimler esnasında (yani algılayıcı yüzeye prob moleküllerin yerleştirilmesi ve sonra da prob moleküllerin üzerlerinden optimize edilmiş belirli bir hızda (10µl/dak) hedef moleküllerin akıtılarak olası etkileşimlerin gözlemlenmesi) aşağıda belirtildiği şekilde 2 aşamada okumalar yapılarak kaydedilmiş ve bu sonuçlar grafiklendirilerek yorumlanmıştır.



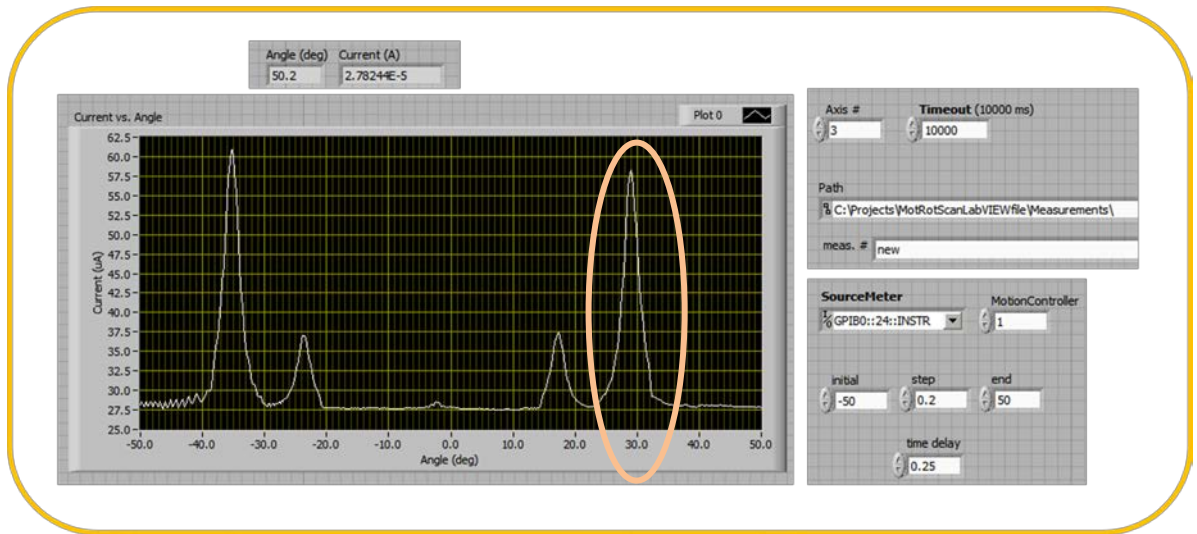
Şekil 6.6 Biyomoleküler Etkileşimleri Algılamak üzere oluşturulmuş Deney Düzeneği:

(a) Peristaltik Pompa, (b) Biyolojik Örnek, (c) 3 eksenli hareketli tabla, (d) YPR algılayıcı bütünlüştürme akış hücresi, (e) Bilgisayar kontrollü döner tabla, (f) Lazer diyot ışık kaynağı (650 nm, < 5mW).

Aşama 1: Ölçümler esnasındaki rezonans pozisyonundaki kaymalara referans oluşturulabilmesi için öncelikle boş algılayıcı yüzey üzerinden bir tampon çözeltisi geçirilmektedir. Bu çözelti, prob moleküllerinin yüzeye tutunabilmesi için, yüzeyde kaplı bulunan ince altın tabakasının açık (-SH) uçlarını prob molekülün gelip bağlanabilmesi için hazırlayan uygun pH seviyesinde MUA (MerkaptoUndekonoik Asit) çözeltisinden oluşmaktadır.

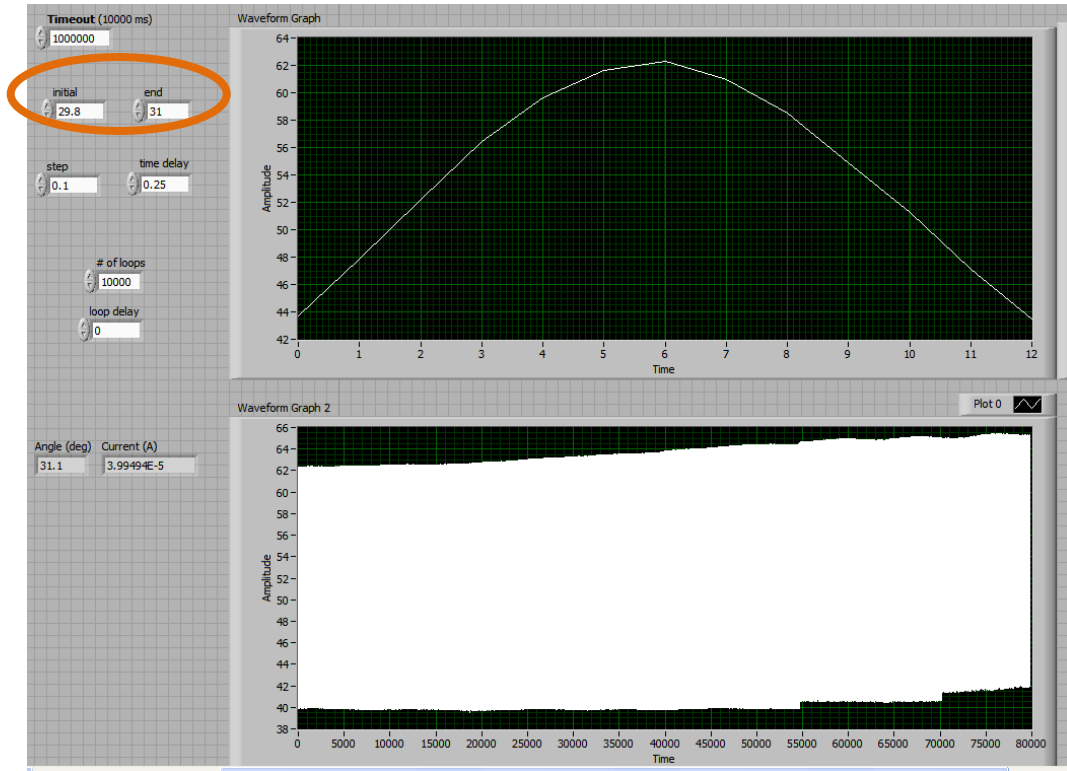
Kanal yapısı içerisinde bu referans çözeltisi geçirildikten sonra Şekil 6.7’de verildiği üzere Şekil 6.6 (e)’deki bilgisayar kontrollü döner tabla kullanılarak ± 50 derece aralığında açısal olarak dolaşarak, Şekil 6.6 (f)’de görülen ışık kaynağı yardımıyla Şekil 6.6 (d)’de yer alan akış sistemi ve kırınım ağı yapısıyla bütünlüştürme olan algılayıcı yüzey

taranmaktadır. Çizdirilen bu grafiğin yatay eksenı yapılmış olan açısıal taramanın adımlarını, düşey eksenı ise bu her bir adımda ışık algılayıcı yüzeyde okunan ışık miktarını (akım değeri üzerinden) yansıtmaktadır. 0 merkezinin sağında ve solunda ikişer tane olmak üzere oluşması beklenen harmonik yapıların (Şekil 6.7'deki büyük resimde bir tanesi işaretlenmiş olarak görölmekte olan) düzgün bir şekilde ortaya çıkıp, plazmonik yapıların yüzeyde rezonansa geçmiş oldukları anlaşıldıktan sonra, yüzeyde gerçekleşecek olan muhtemel etkileşimlerin gerçek zamanlı olarak algılayıcı yüzeyde yaratacağı değışimleri yakalamak üzere ölçüm kayıt işlemlerinde ikinci aşamaya geçilmektedir.



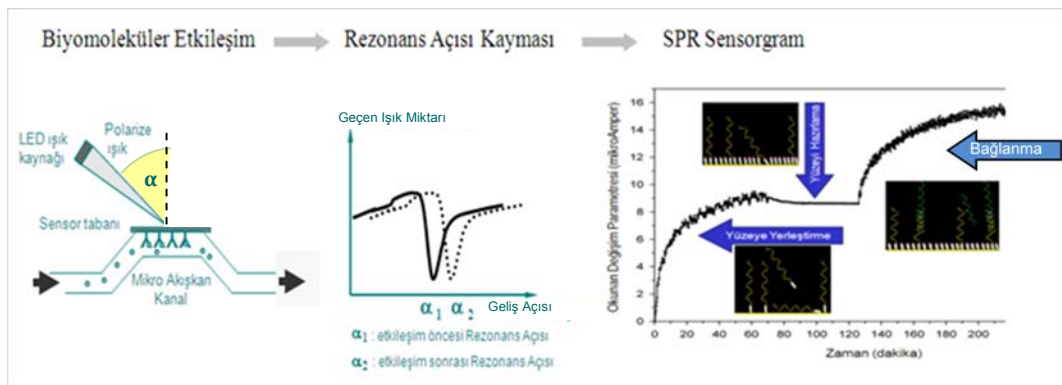
Şekil 6.7 Labview arayüzünde artı ve eksi birinci ve ikinci plazmonik harmoniklerinin oluşumunun gözlenerek kaydedilmesi ve çalışma bölgesinin seçilmesi.

Aşama 2: Ölçümlerin ikinci aşamasında ise Şekil 6.7'de daire içerisine alınarak gösterilmiş olduğu üzere harmoniklerden bir tanesi seçilerek, bu rezonans eğrisinin keskin üst tepesi etrafında daha dar bir açısıal aralık (Şekil 6.8 örneğinde daire içerisinde gösterildiği üzere 29.8 – 31 açıları arasında) taranmakta, Şekil 6.8'in üst kısmında yer alan grafikte oluşan rezonans eğrisinin açısıal pozisyonunun kaydı tutulurken, bir yandan da altında yer alan grafikte ise bu rezonans eğrisinin zamana bağılı değışimi kaydedilmektedir. Üstteki grafik etkileşimlere bağılı olarak rezonans eğrisinde gerçekleşen açısıal ve ışık şiddetsel kaymaları verirken, altında yer alan grafik çizgisel olarak rezonans eğrisinin tepe noktasında gerçekleşen kaymaları zamana bağılı olarak ışık şiddetsel olarak vermektedir.



Şekil 6.8 Algılayıcı bütünleşik mekanizmanın yüzeyinde gerçekleşen moleküler etkileşimlere verdiği gerçek zamanlı cevaplar.

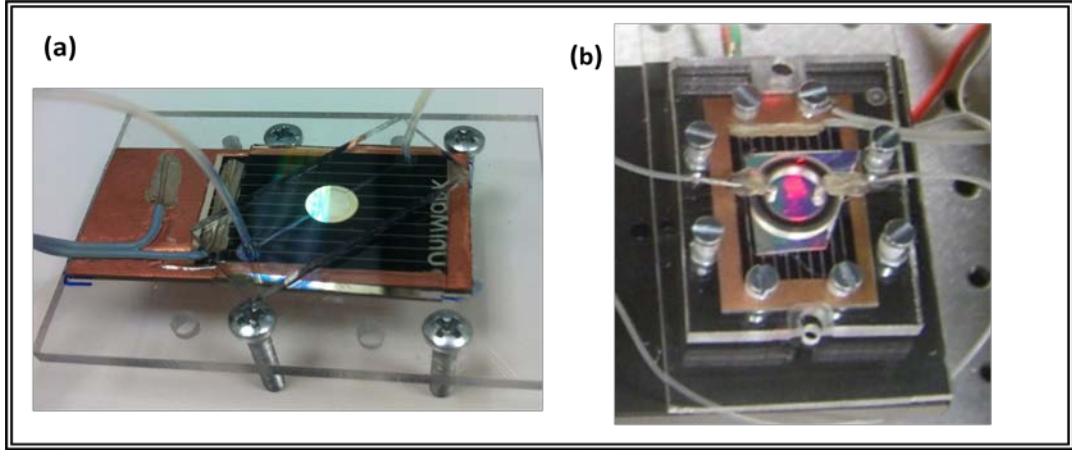
Bu bahsedilen kayıt tutma yöntemleri kullanılarak Şekil 6.9’da verilmiş olan tipik bir YPR prensibine dayalı biyomoleküler etkileşim algılama metodolojisi içerisinde yer alan ‘Rezonans Açısı Kayması’ ve ‘YPR Sensorgram’ bilgileri toplanmış olmaktadır.



Şekil 6.9 YPR prensibine dayalı karakteristik ölçüm ve algılama metodolojisi.

6.4 Kullanılan Bütünleşik Algılayıcı Platformlar

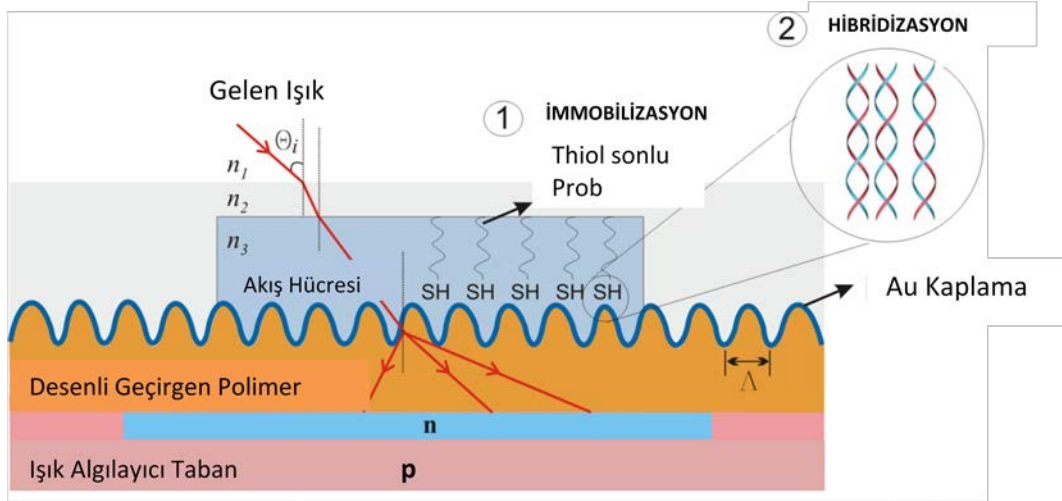
Algılayıcı yüzeyi test etmek üzere çalışmaya uygun en uygun derişimleri belirlenmek üzere farklı derişimlerde 'prob' ve 'hedef' molekülleri ile çalışılmış ve bu optimizasyon faaliyetleri Şekil 6.10 (b)'de verilmiş olan makro-kanal yapısı (malzemesi şeffaf polimer olan kırınım ağı yapısı olarak modifiye DVD yapısı içeren, 400µm derinliği ve 1cm çapı olan bir hücre yapısı) içerisinde uygulanmıştır. Algılanabilir uygun derişimler tespit edildikten sonra Şekil 6.10 (a)'da verilmiş olan özel mikro-kanal yapısı (malzemesi PDMS olan, kırınım ağı yapısı cam bir yüzeye transfer edilmiş olup, 70µm derinliklerinde kanal yapısına sahip olan) içerisinde etkileşim deneyleri tekrarlanmıştır.



Şekil 6.10 (a) Bütünleşik mikro-kanal yapısı, (b) Bütünleşik makro-kanal hücre yapısı.

6.5 Prob Moleküllerinin Algılayıcı Yüzeye Tutturulması

Algılayıcı yüzey üzerinde gerçekleşmesi beklenen biyomoleküler etkileşimler teoride şematik olarak Şekil 6.11’de verilmiş olan senaryo çerçevesinde gerçekleşmektedir.



Şekil 6.11 Biyomoleküler etkileşim deneylerinin şematik gösterimi.

Mikro-molar ölçekli olmak üzere farklı derişimlerde hazırlanmış olan örnekler algılayıcı yüzeyin altın kaplı tabanına tutunabilecek şekilde thiol sonlu bir bağ içerecek şekilde modifiye edilmişlerdir. Belirli bir süre boyunca yüzeye bütünleştirilmiş akış-kanalı içerisinde akıtılan farklı derişimlerdeki problemlerin hangi derişimde en belirgin (tercih edilen seçim olası en düşük derişimde olası en iyi sensör cevabını almak üzerine yapılmaktadır) sinyal cevabını ürettiği derişim belirlenmekte ve bu belirlenen prob derişimi üzerinden de bir sonraki aşama olan hedef geçirme safhasında, farklı hedef derişimlerinden çalışmaya en uygun olanı tespit edilmeye çalışılmaktadır.

Prob Immobilizasyon aşamasındaki deney protokolü şu şekilde tasarlanmıştır:

Adım 1: Problemlerin içerisinde bulunduğu çözeltisinin prob molekülsüz hali kullanılarak altın yüzeyinin prob bağlanabilir hale getirilmesi – pH 3.8 lik bir tampon çözeltisinin yaklaşık 15 dk süresince yüzeyden 10 rpm (10µl/dk) lık bir hızda yüzeyden geçirilmesi,

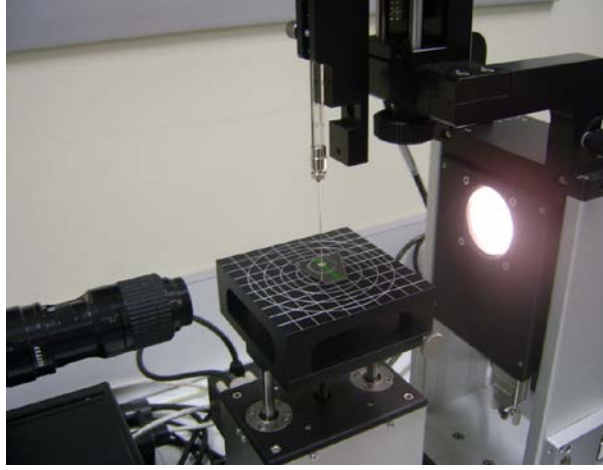
Adım 2: Prob moleküllerin aynı akış hızıyla yüzeye bağlanma sabitlenene kadar (dinamik olarak üretilen YPR sinyallerinin grafiksel olarak belirli bir düzlüğe ulaştığı ana kadar) akış-kanalı içerisinde geçirilmesi.

Adım 3: Yüzeye tutturma (immobilizasyon) işleminin son aşaması olarak yüzeye tutunan tek sarmallı DNA yapısının yan yatarak yüzeyi bloke etmesini engellemek amacıyla MCH denilen merkaptohexagonal solusyonunun akış-kanalı içerisinde 15dk süreyle aynı hızda geçirilmesi. DNA sarmalının oryantasyonunu sağlayan MCH, sarmal yapıları yüzeye tutunduktan sonra boş kalan alanları doldurarak sarmalın içerisindeki başka bir baz grubundan altın yüzeyine ikinci bir kez daha istenmeyen şekillerde yapışmasını engellemektedir.

6.5.1 Yüzey İmmobilizasyonu Deney Seti (Makro Kanallı)

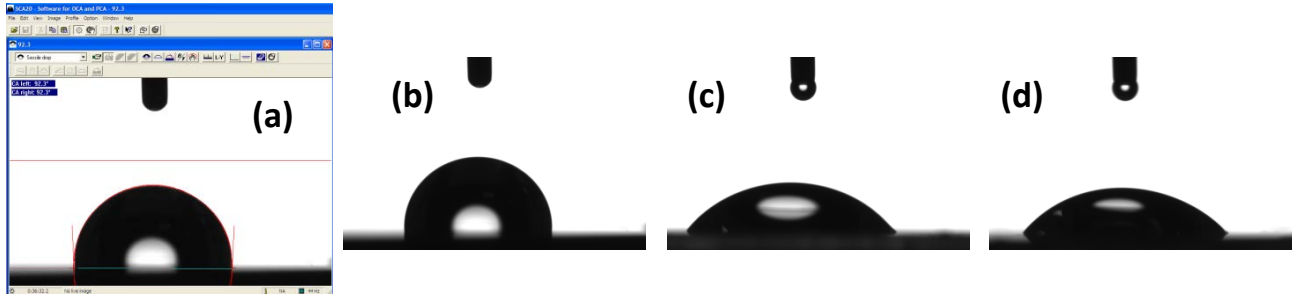
İlk denemeler, pH seviyesi 3.4 olan bir tampon çözeltisiyle yüzeyin immobilizasyona hazırlanmasından sonra, 0.125, 0.25, 0.5, 1 ve 2 μM (mikro-molar) olmak üzere farklı derişimlerde hazırlanmış MTB problemlerinin algılayıcı yüzey üzerinden 10 rpm'de 0.368 mililitre/dakika'lık bir salımla akıtılmasıyla yapılmıştır. Yüzeyin pH uyumluluğu için 15 dakikalık bir akış yapılmış, ardından problemler akış hücresinden 1, 2, 4 ve 6 saat süresince akıtılarak anlık ve gerçek zamanlı kayıtlar alınmıştır.

Günümüzde henüz YPR tekniği dışında özellikle DNA gibi çok küçük ölçekte moleküllerle çalışıldığında, yüzey görüntülemesi yapabilecek herhangi bir ölçüm sistemi bulunmamasına karşın, gerçekleştirilmeye çalışılan immobilizasyon denemelerinin yüzeyde yarattığı derişimler hakkında fikir sahibi olabilmek için mümkün olan cihazlar kullanılarak bir takım aletsel ölçümler yapılmıştır. Bu ölçümlerden ilkinin yüzeye bir su damlası bırakılması suretiyle yüzey enerjisindeki derişimin yol açtığı hidrofobiklikten hidrofilikliğe geçişin gözlemlenebildiği temas açısı ölçümleri oluşturmaktadır (Şekil 6.12).



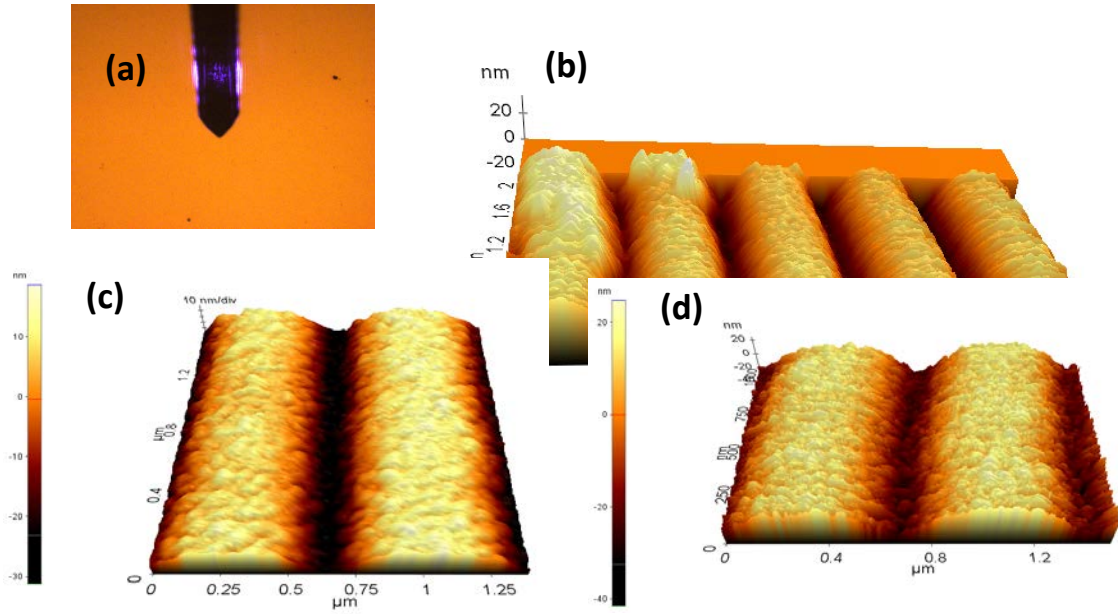
Şekil 6.12 Temas açısı ölçüm cihazı ile yapılan yüzey enerjisi ölçümü.

Farklı derişimlerde yüzey immobilizasyonu sonrasında alınan temas açısı ölçümleri Şekil 3.1.2’de verildiği üzere derişim artışının yüzeyin hidrofobikliğini gittikçe azalttığını ortaya koymaktadır.



Şekil 6.13 – Temas açısı ölçüm sonuçları. (a): Yüzeyle yaptığı açı, (b): Boş yüzey 92.3°, (c): 0.125 μ M’lık immobilizasyon 50°, (d): 0.5 μ M’lık immobilizasyon 47.7°.

Yüzeye yapılan yerleştirme işleminin sonuçları görselleştirmek için kullanılan diğer bir aletsel ölçüm yöntemi de AFM (atomic force microscopy) ölçümleridir. Yüzeye tutturulacak olan biyolojik örneklerin derişimleri arttıkça yüzeyin pürüzsüzlüğü giderek azalmaktadır. Üzerinde biyolojik örneklerin bulunduğu yüzeylerden daha kaliteli görüntü alabilmek için AFM ölçümleri sırasında farklı uçlar denenmiştir.

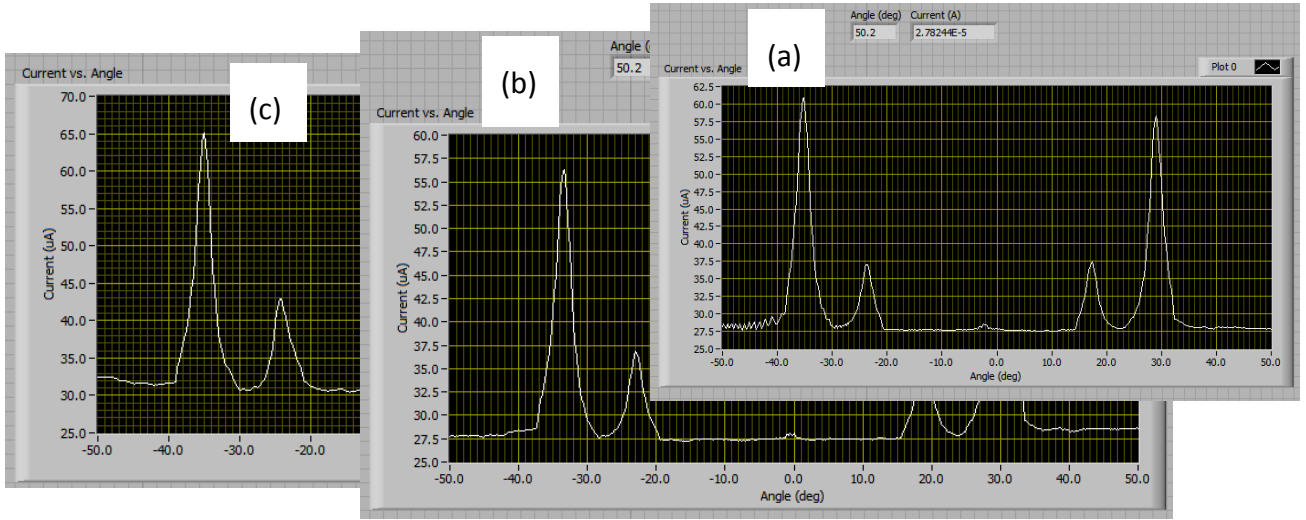


Şekil 6.14 AFM ölçüm sonuçları. (a): Seçilen temas ucu (temas modu, 13 KHz), (b): Boş yüzeyin AFM görüntüsü, (c): 0.125μM'lık immobilizasyon sonrası yüzey topoğrafisi, (d): 0.5 μM'lık immobilizasyon sonrası artan yüzey pürüzlülüğünün görüntüsü.

Boş bir yüzeye kıyasla üzerine bir takım biyolojik örneklerin tutunduğu pürüzlü yüzeylerden gelen geri yansıma sinyallerindeki gürültünün asgari seviyede tutulabilmesi için kullanılan uçların optimizasyonunun yapılması gerekmektedir. Bu doğrultudan hareketle en verimli görüntülemenin yüzeye temas eden tipte olup 13 KHz salınım frekansına sahip uzun ya da üçgen geometrili AFM uçları kullanılarak düşük frekanslı yüzey taramaları ile elde edilebildiği sonucuna varılmıştır (Şekil 6.14).

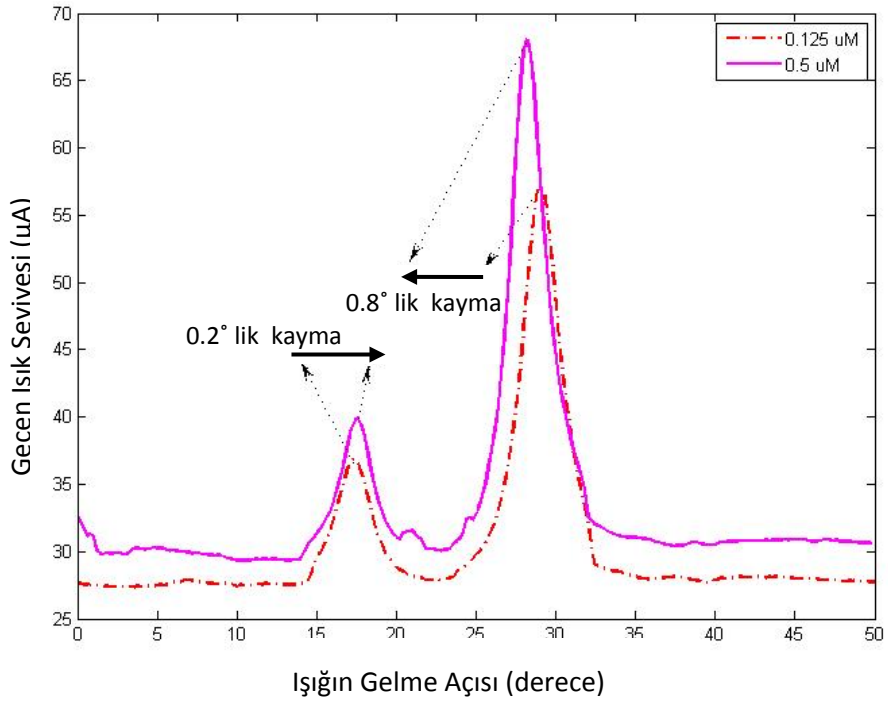
Şekil 6.6'da verilmiş olan kurulmuş deney düzeneğinde yapılan ölçümler sonrasında yüzeyde oluşan farklı konsantasyonlardaki tabakalanmaların neden olduğu indis değişimleri, yapılan açısal taramalarla YPR açısı kaymalarının gözlemlenebileceği grafikler olarak çizdirilmiş (6.15) ve Açısal Değişim – Geçen Işık Miktarı (bu değer ışık akım karşılığı olarak) eksenli veriler metin dosyaları içerisinde kaydedilmiştir. Bu metin dosyalarından gerekli verilerin çekilerek işlenmesi sonucunda derişime bağlı YPR kayma miktarları ortaya çıkarılmıştır (Şekil 6.16). Akış öncesi ve sonrasında alınan bu açısal taramalar dışında gerçek zamanlı ölçümler de alınmış ve en kullanılabilir gerçek zamanlı

kayıtların hangi parametrelere bağılı olarak alınacağı üzerinde yoğun olarak denemeler yapılmıştır.

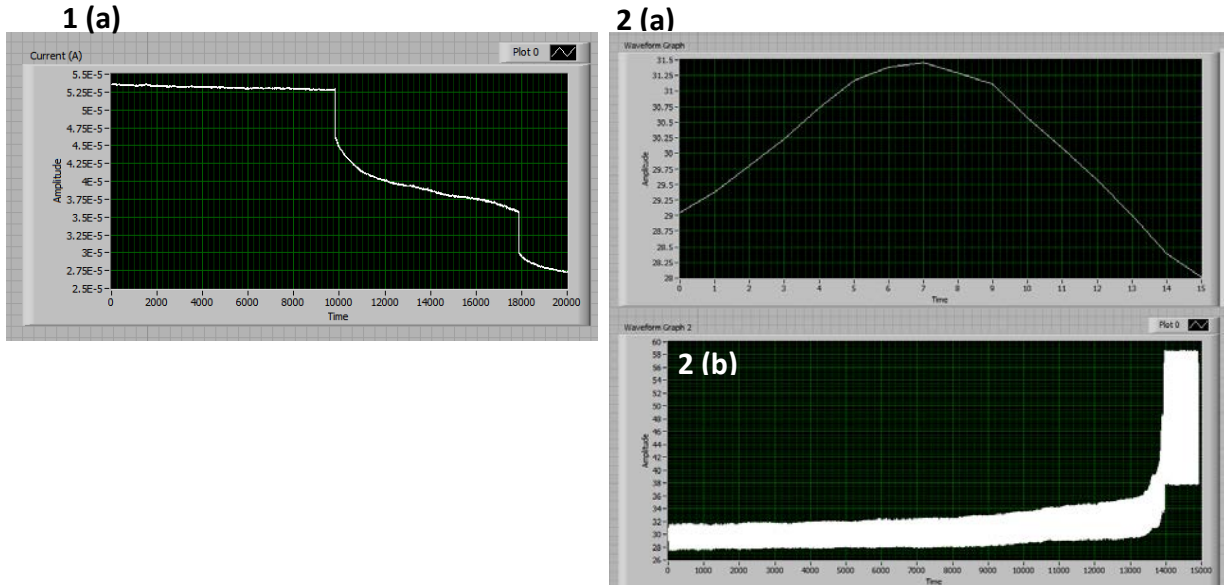


Şekil 6.15 Bütünleşik YPR algılayıcı mekanizmalı deney düzeneğinden alınan grafik çıktıları. X-ekseninde ışık kaynağı ile yapılan açısal tarama, y-ekseninde bu tarama esnasında ışığın YPR yüzeyinin altındaki ışık algılayıcı tabana geçerek yarattığı akım değişimleri çizdirilmiştir. (a): ph 3.4'lük çözeltiyle hazırlanmış boş yüzeyin oluşturduğu plazmonik harmonikler, (b): 0.125 μ M'lık immobilizasyon sonrası YPR açılarının değişimi, (c): 0.5 μ M'lık immobilizasyon sonrası YPR açılarında meydana gelen kaymalar.

Bahsedilmekte olan algılayıcı mekanizmanın gerçek zamanlı cevabının okunabilmesi için akış hücresi içerisine sıvı salınımı yapılırken bir yandan da algılayıcı yüzey ışık kaynağı ile önceden saptanmış olan rezonansa girme açısal aralığı içerisinde gerçek zamanlı olarak taranarak kayıt altına alınmıştır. Algılayıcı mekanizmanın cevabını en anlamlı şekilde kayıt edebilmek için farklı yaklaşımlarda bulunulmuştur (Şekil 6.17).



Şekil 6.16 Farklı derişimlerdeki yüzey immobilizasyonunun yarattığı YPR açılarındaki karşılaştırmalı kayma miktarları.



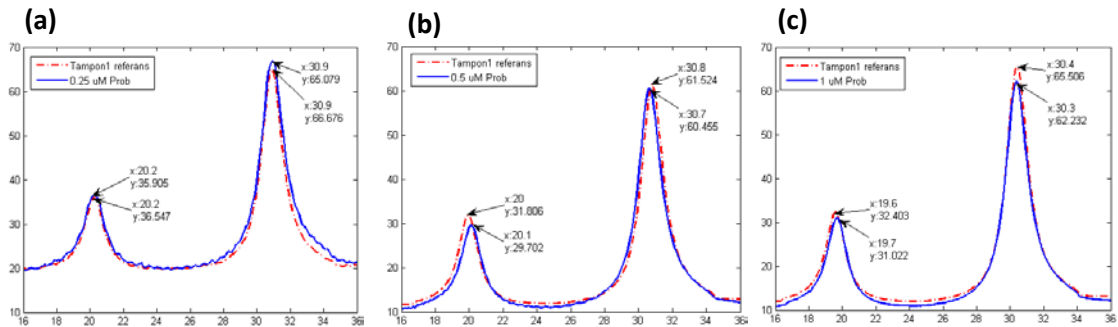
Şekil 6.17 Gerçek zamanlı algılayıcı cevabını yakalama denemeleri. 1 (a): Rezonans açısının en keskin değişim gösterdiği bir açıya sabitlenerek bu açıda zamana bağlı kayıt alımı, 2 (a): Rezonans eğrisinin açısal sınırlarının belirlenerek bu aralıkta zamana bağlı kayıt alımı, 2 (b): Rezonans eğrisinde zamana bağlı meydana gelen değişimlerin gözlemlenmesi.

6.5.2 Alınan İlk Sonuçların Değerlendirilmesi

Hazırlanmış olan bütünleşik YPR algılayıcılı deney düzeneğinde farklı molaritelerdeki biyolojik örnek çözeltileri denenmiştir. Akış kontrollü olarak farklı sürelerde yapılan yüzey immobilizasyon denemeleri sonrasında 0.375 μM 'lık bir derişim değişiminin algılayıcı YPR sisteminin okumalarında birinci plazmonik harmonikte 0.8, ikinci plazmonik harmonikte 0.2 derecelik açisal kaymalar yarattığı tespit edilmiştir. Bu verilerden yola çıkarak kabaca 4.68×10^{-7} mertebelerinde bir hassasiyetle okuma yapılabildiği söylenebilir.

0.125, 0.25, 0.5, 1 ve 2 μM 'lık hazırlanmış prob çözeltileri algılayıcı yüzey üzerinde çalıştırıldıktan sonra kullanılabilir en anlamlı verilerin 0.25, 0.5 ve 1 mikro-molarlık derişimlerde hazırlanmış olan örneklerden elde edildiği ortaya çıkmıştır.

Şekil seti 6.18'de bu derişimlerde yapılan deneylerin kayıt altına alınabilmiş takip edilebilir anlamlı verilerinden yapılmış alıntılar sergilenmektedir.



Şekil 6.18 Algılayıcı bütünleşik mekanizmanın farklı derişimlerdeki (a) 0.25 μM , (b) 0.5 μM , (c) 1 μM 'lık problemlerin yüzeye immobilizasyonu sırasında verdiği cevaplar. X-ekseni açisal tarama aralığını, Y-ekseni ışık algılayıcı tabana geçen ışık seviyesi miktarını (μA seviyesinde) göstermektedir.

Şekil seti 6.18'de farklı derişimlerdeki problemlerin platoya ulaştıkları gözlemlendiği anda yarattıkları YPR sinyal değişimleri, yüzeyi hazırlayıcı ilk tampon çözeltisinin geçirilmesi sonucu alınan sinyaller referans tutularak verilmektedir. Grafiklerdeki x değişim değerleri, YPR anının yüzeyden akan sıvı derişimindeki değişimlere bağlı olarak değişen ortam kırılma indisindeki ufak oynamaların sonucunda uğradığı kaymaları göstermektedir. x değerleri ile değişen ortam kırılma indisi arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır.

Grafiklerdeki y değişimleri ise yüzeyde değişen sıvı derişimine bağlı olarak yüzeyde meydana gelen tabakalanmadaki değişimlerin alt tabandaki ışık algılayıcı yüzeye geçen ışık miktarında oluşturduğu kaymaları göstermektedir. Y değerleri ile yüzeyde meydana gelen moleküler birikim arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır.

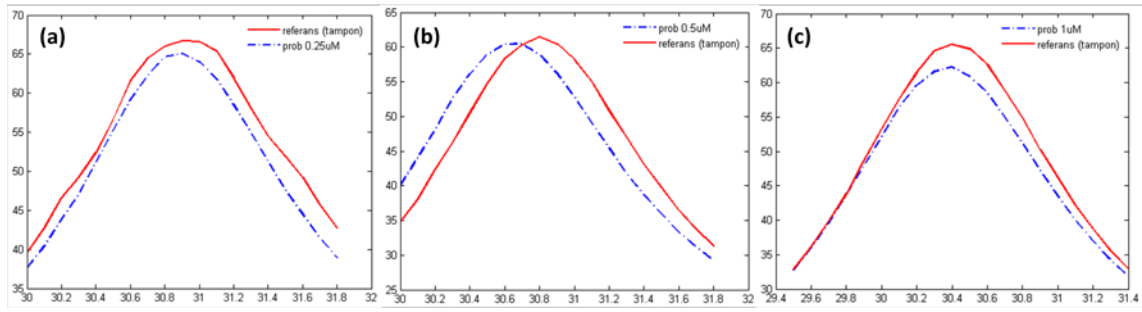
Bir sonraki aşama olan hedef geçirme deneylerine geğmeden önce algılayıcı yüzeyin en takip edilebilir, tekrarlanabilir ve anlamlı cevapları hangi derişimlerdeki yüzey tutunmalarına karşı sergilediğinin tespit edilmesi amacıyla Şekil 6.17 ve 6.18’de tarif edilmiş olan sistematik içerisinde çeşitli denemeler yapılarak kayıtları tutulmuştur. En belirgin sinyal cevabını ürettiren prob derişimi, bu nedenlerle optimize edilmeye çalışılmış ve optimize edilen bu derişim sabitleyerek bir sonraki aşama olan hedef geçirme yani DNA hibridizasyonu deneylerine hazırlıklar yapılmıştır.

6.5.3 Uygulanan Prob Immobilizasyon Deneylerinin Sonuçları

Şekil 6.9’da verilmiş olan metodolojiye uygun şekilde oluşan ‘rezonans açısı kaymaları’ ve ‘YPR Sensorgram’ grafikleri kademeli olarak aşağıda verildiği şekilde oluşturulmuştur.

A) Rezonans Açısındaki Kaymaların Gözlemlenmesi:

Şekil 6.9’da yer alan ‘*rezonans açısı kayması*’ grafiği geleneksel prizmalı YPR konfigürasyonu temel alınarak yapılmış olduğu ve yüzeyden yansıyan ışık miktarına bağlı olarak çizildiğinden rezonans eğrileri alt uçlarında dip yapmaktadırlar. Bu çalışmada kullanılan yöntem yansıma modunun karşıt eşleniğine denk gelen ‘*ışığın geçme miktarı*’na dayalı olarak tasarlanmış olduğundan sergilenen grafiklerdeki rezonans eğrilerinin üst uçlarında tepe noktası vermekte olduğuna dikkat edilmelidir.



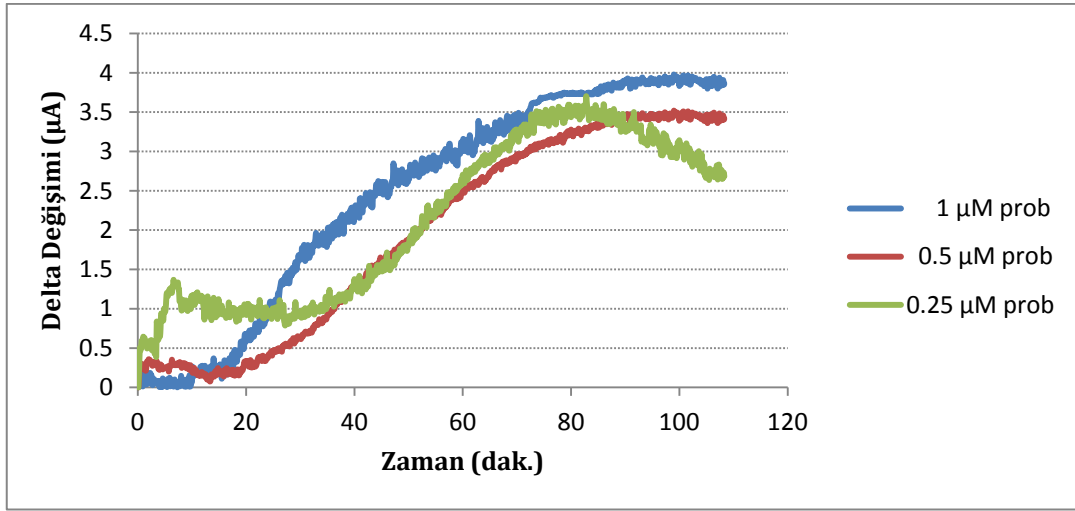
Şekil 6.19 Algılayıcı bütünleşik mekanizmanın farklı derişimlerdeki (a) 0.25 μ M, (b) 0.5 μ M ve (c) 1 μ M’lık problemların yüzeye immobilizasyonu sırasında verdiği cevaplar. X-ekseni açısıl tarama aralığını, Y-ekseni ışık algılayıcı tabana geçen ışık seviyesi miktarını (μ A seviyesinde) göstermektedir.

Bir sonraki aşama olan hedef geçirme deneylerinde hangi derişime sahip örneklerin kullanılacağına karar verirken, yalnızca Şekil 6.19’da verilmiş olan YPR grafiklerinin tepe yaptığı sayısal değerlere bakmak yanıltıcı olabilmektedir. Zira bu grafikler etkileşim öncesi ve sonrasında alınmış anlık değerlere dayanmaktadır. Karar verme aşamasında Şekil 6.20’deki gibi zamana bağlı değişim grafiğinin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Nitekim Çizelge 6.1’de verilmiş sayısal değerlere bakıldığında 0.25 ve 1 μ M’lık derişimlerde herhangi bir açısıl kayma olmadığı ve dolayısıyla YPR açısından tespit edilebilecek bir değişim olmadığı kanısına aceleci bir değerlendirme sonucu varmak an meselesidir. Oysaki durum yukarıda bahsedildiği üzere anlık okumaların ölçüm anındaki sadece o anda verdiği verilerin değişkenliğinden kaynaklanmaktadır. O ölçüm anının 5 saniye ya da 5 dakika öncesinde çok dramatik değişen okumalar kaydetmek olasıdır.

Referanstan sapma miktarı	0.25 uM prob	0.5 uM prob	1 uM prob
Işık Şiddeti (uA)	-1.597	-1.069	-3.274
Açısıl Kayma (derece)	0	0.1	0

Çizelge 6.1 Algılayıcı yüzey okumalarında farklı prob derişimleri sonucu ölçülen rakamsal derişimler.

B) Gerçek Zamanlı YPR Sensorgramının Gözlemlenmesi:



Şekil 6.20 Algilayıcı yüzeyden geçirilmiş olan farklı derişimlerdeki prob moleküllerin zamana bağlı olarak yüzeye tutunmalarını sergileyen grafik gösterimi.

Yapılmış olan çeşitli deneysel ölçümler sonrasında 3 farklı derişime sahip prob moleküllerin algılayıcı yüzeye yerleştirilmesi sonucunda elde edilmiş olan veriler göz önünde bulundurularak (Şekil 6.19, Çizelge 6.1 ve Şekil 6.20) 0.5µM olarak hazırlanmış olan prob çözeltisinin çalışmanın bir sonraki aşamasında (hedef moleküllerin yüzeyden geçirilmesi) çalışmaya uygun olduğu anlaşılmıştır. Şekil 6.20 incelendiğinde 1 ve 0.5 µM'lık çözeltilerden herhangi birinin de çalışmaya müsait olduğu anlaşılmaktadır. Çünkü bu iki derişime sahip prob çözeltilerinin algılayıcı yüzey üzerinde oldukça net farkedilebilen sinyalleri gerçek zamanlı olarak üretebildiği dikkat çekmektedir. Ancak diğer taraftan Çizelge 6.1'de hem açılma kayma hem de ışık şiddeti değişimi şeklinde belirgin ölçülebilir farklılıklar gösteren derişimin 0.5 µM'lık çözeltiye ait olduğu görülmektedir. Diğer bir taraftan da algılayıcı yüzeyin amaca uygun bir şekilde kullanılabilirliğini gösterebilmek açısından olası en düşük seviyedeki derişimle çalışmak uygun olacaktır. Nitekim biyomoleküler algılayıcı platformlarının performansını ispatlayıcı temel kriterlerden bir tanesi de kullanılan sarf malzemesi ihtiyacını asgari seviyede tutabilecek bir derişimde çalışılabilecek olmasıdır.

Hedef geçirme aşamasına geçme öncesinde çalışılacak en uygun derişimi seçme noktasındaki bir diğerk önemli değişken de bu verilere ulaşılırken geçen deney sresidir. Alınan sinyallerin platoya ulaşma süresi geciktikçe yüzeyde istenmeyen ikincil bir moleküler katmanın oluşma olasılığı da yükselmektedir. Bu çalışmadaki prob immobilizasyon deneyleri yaklaşık olarak 0.25ml’lik örneklerin yüzey üzerinden döngüsel bir şekilde geçirilmesi yöntemiyle yapıldığından, DNA’nın tek sarmallı prob yapısı belirli bir süre içerisinde altın yüzeyine tutunduktan sonra yüzeyden bu problemler döngüsel bir şekilde geçirilmeye devam ettikçe bir takım istenmeyen kopmalar olabildiği ya da sarmal yapıların birbiri üzerine tekrar bağlanmaya çalıştıkları bilinmektedir. Bu nedenle en kısa sürede (ki bu süre literatürdeki DNA hibridizasyon çalışmalarının prob immobilizasyon aşamasında 120-200 dk arasında değişmektedir) sinyal seviyesinde platoya ulaşıldığı anda sonlandırılması gerekmektedir. şekil 6.20’deki 0.25μM’lık probun yzeje yerleşme esnasında sergilemiş olduğu tavır işte bu bahsedilen nedenden ötürüdür.

6.6 Hedef Moleküllerinin Algılayıcı Yüzeyden Geçirilmesi (Makro Kanallı)

Algılayıcı yüzeylerin validasyonu aşamasında gerçekleştirilmesi planlanmış olan ikinci ve son aşama ise yzeje yerleştirilmiş olan prob moleküllerine bağlanma eğilimi gösteren hedef moleküllerinin yüzeyden geçirilmesi durumunda, algılayıcı yüzeyin farklı derişimlerde hazırlanmış olan bu hedef molekül içeren çözeltilere ne şekilde cevap vereceğinin gözlemlenmesi olmuştur. Bu maksatla bir nceki Bölüm 6.5’te belirtildiği üzere seçilmiş uygun 0.5 μM’lık prob moleküllerin yerleştirilmiş olduğu algılayıcı yüzeylerde aşağıdaki deney protokolü adımları çerçevesinde farklı derişimlerde hazırlanmış olan hedef moleküllerine algılayıcı mekanizmanın nasıl cevaplar verdiği kayıt altına alınmıştır.

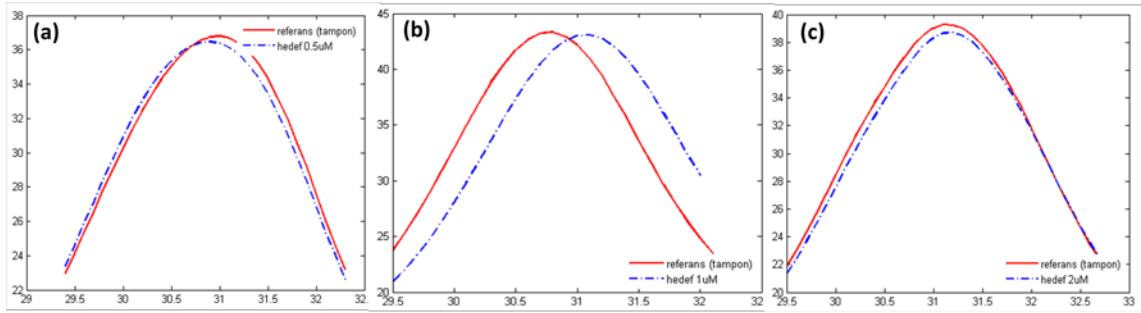
Adım 1: Hedef molekülün içerisinde hazırlandığı pH 7.4’lk ikincil tampon çözeltisinin yüzeyden 15-25 dk arasında geçirilmesi,

Adım 2: Hedef molekül olan tamamlayıcı DNA sarmal yapılarını içeren farklı derişimlerde hazırlanmış zeltelerin yüzeyden geçirilerek etkileşim adımlarının tamamlanması şeklinde açıklanabilir.

6.6.1 Uygulanan Hedef Geçirme Deneylerinin Sonuçları

Şekil 6.9’da verilmiş olan metodolojiye uygun şekilde oluşan ‘rezonans açısı kaymaları’ ve ‘YPR Sensorgram’ grafikleri kademeli olarak hedef moleküllerinin yüzeyden geçirilmesi esnasında da oluşturulmuştur. Hedef moleküllerin yüzeye tutturulan prob moleküller üzerinden geçirilmesine ilişkin deneylerde yine çeşitli derişimler denenmiştir. Ancak burada aralarından en anlamlı sonuçlar vermiş olan 3 farklı derişim seçilerek sırasıyla 0.5, 1 ve 2 μM ’lık derişimlere ait kayıtlar sergilenmektedir.

A) Rezonans Açısındaki Kaymaların Gözlemlenmesi:



Şekil 6.21 Algılayıcı bütünleşik mekanizmanın farklı derişimlerdeki (a) 0.5 μM , (b) 1 μM ve (c) 2 μM ’lık hedeflerin yüzeydeki prob moleküllere bağlanma sırasında verdiği cevaplar. X-ekseni açisal tarama aralığını, Y-ekseni ışık algılayıcı tabana geçen ışık seviyesi miktarını (μA seviyesinde) göstermektedir.

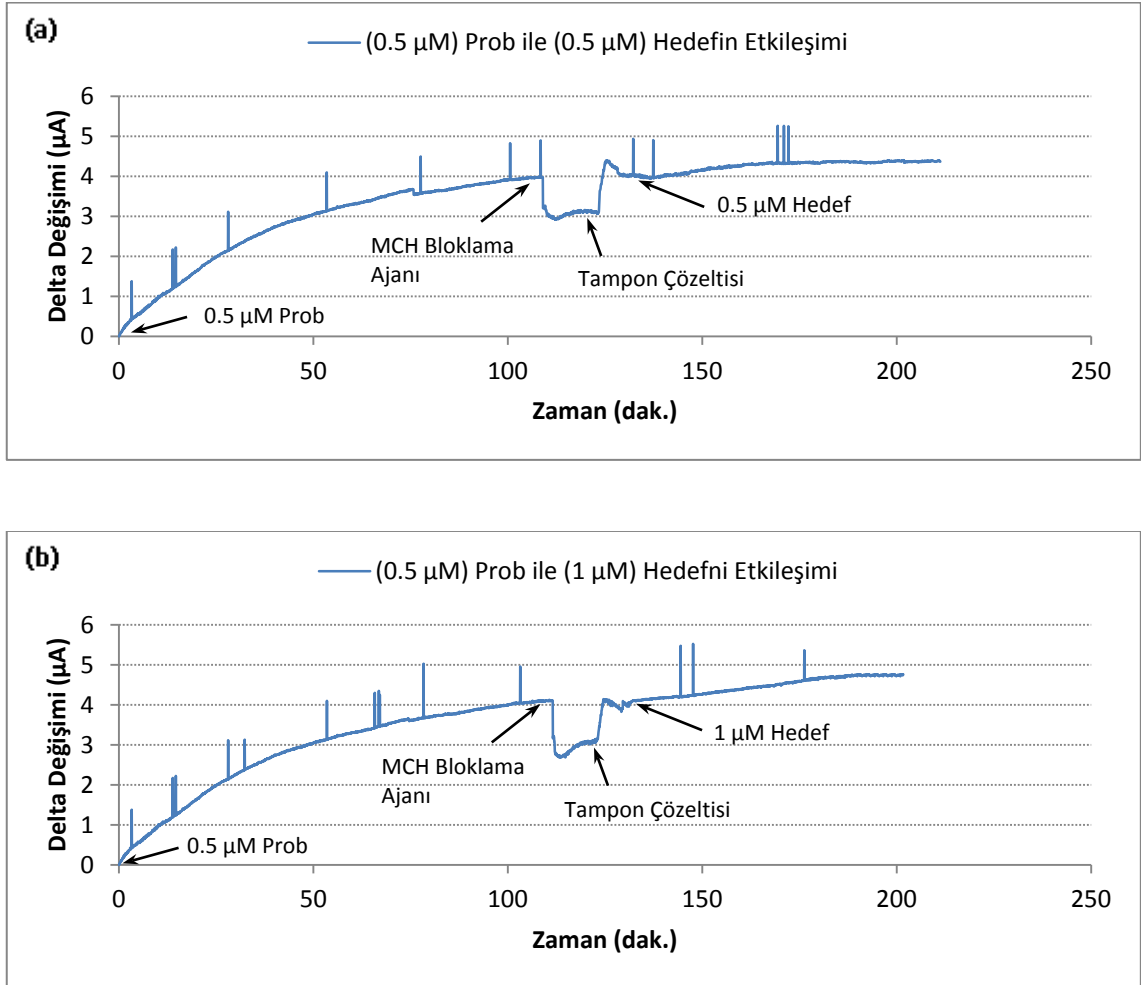
Şekil 6.21, yüzeye yerleştirilmiş olan prob moleküllerin, üzerlerinden akıtılan hedef moleküllerle etkileşimi öncesi ve sonrasına ait karakteristik YPR grafiğinde oluşan anlık kayma miktarlarını sergilemektedir.

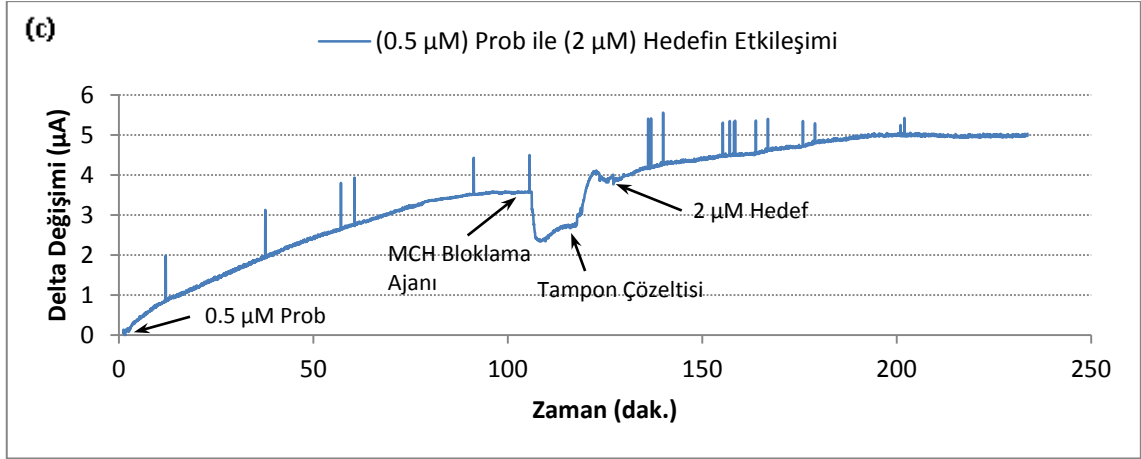
Referanstan sapma miktarı	0.5 μM hedef	1 μM hedef	2 μM hedef
Işık Şiddeti (μA)	-0.327	-0.239	-0.576
Açisal Kayma (derece)	0.1	0.3	0.1

Çizelge 6.2 Algılayıcı yüzey okumalarında farklı hedef derişimleri sonucu ölçülen rakamsal değışimler.

B) Gerçek Zamanlı YPR Sensorgramının Gözlemlenmesi

Şekil 6.22'de verilmekte olan ölçüm kayıtları bir önceki bölümde anlatıldığı üzere yüzeye prob moleküllerin yerleştirilmesi için uygun olduğu tespit edilmiş olan 0.5 μM 'lık derişim kullanılarak, her seferinde yeniden hazırlanan bir algılayıcı yüzey çipi üzerinde bu seçili prob immobilizasyonunun tekrarlanarak sonrasında da farklı derişimlerde hedef molekülleriyle etkileşime sokulmuş olduğu deneysel çalışmalardan alınmıştır ve bu kayıtlar baştan sona kadar bütün deney protokol adımlarını içermektedir.

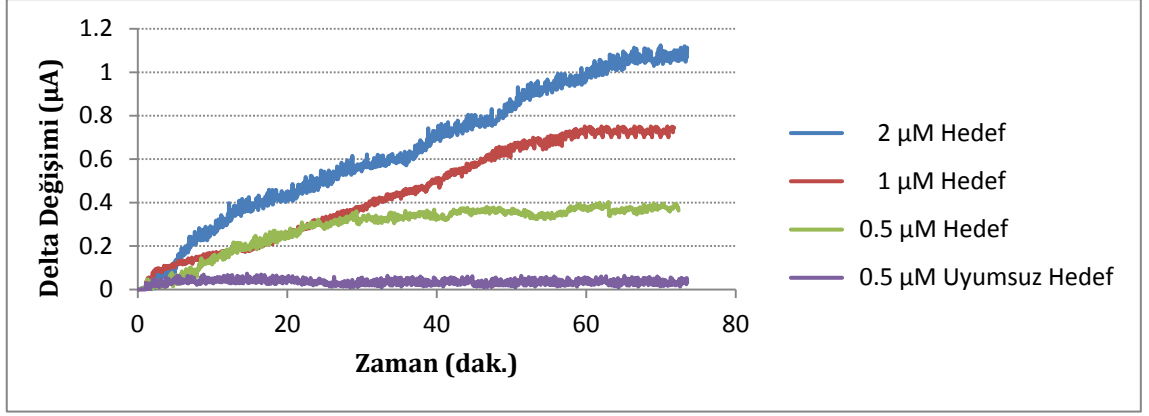




Şekil 6.22 Hedef molekül olarak sırasıyla (a) 0.5 µM, (b) 1 µM ve (c) 2µM'lık derişimlerin kullanıldığı deney protokolünün baştan sona tüm adımlarının gösterimi.

Şekil 6.22'de verilmiş olan grafik seti dikkatle incelendiğinde, yüzeye prob yerleştirme adımı olan ilk bölümlerin her üç denemede de birbirine eşdeğer sonuçlar ürettiği farkedilecektir. Bu durum, her bir deney başlangıcında kullanılan çoğaltılmış algılayıcı taban parçalarının, her seferinde aynı protokol adımları kullanıldığında aynı sensör cevabını tekrarladığını ispatlamaktadır. Burada prob moleküller için önceki bölümde optimize edilmiş olduğu anlatılan derişim değerinin her farklı hedef molekülü için 0.5 µM'a sabitlenmiş olduğu görülmektedir.

Farklı hedef derişimlerinin denenmiş olduğu prob-hedef etkileşimi adımlarında Şekil 6.22'de görüldüğü üzere algılayıcı taban farklı cevaplar üretmektedir. Üretilen bu farklı cevaplar Şekil 6.23'te aynı grafikte çizdirilerek bir kıyaslamaya gidilmiştir. Üstelik bu grafikte algılayıcı yüzeylere tutturulmuş olan prob moleküllerin bağlanma eğilimi göstermeyeceği bilinen farklı bir hedef çözelti kullanılarak (Uyumsuz Hedef) algılayıcı tabanın istenmeyen ve spesifik olmayan bağlanmalara karşı tepkisiz olduğu gösterilmiştir.



Şekil 6.23 Hedef molekül olarak sırasıyla 2 µM, 1 µM ve 0.5µM'lık derişimlerin kullanıldığı deney protokolünün sadece prob-hedef etkileşiminin gerçekleştiği bölümlerinin gösterimi.

6.7 Etkileşim Deneylerinin Mikro-Kanallı Bütünleşik Sistemde Tekrarlanması

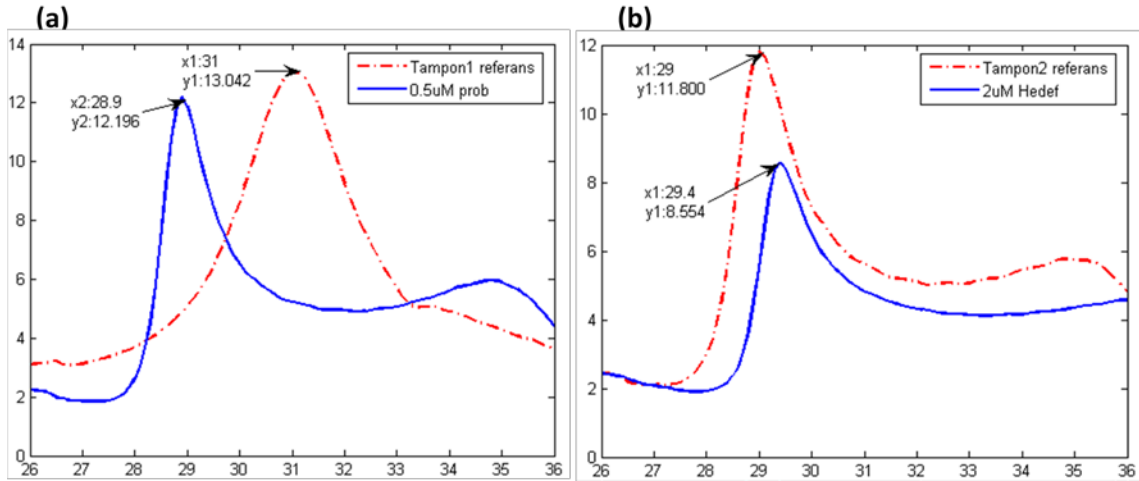
Bu tez çalışmasının son aşamasının anlatıldığı bu bölümde Şekil 6.10 (a) ile bahsedilmiş olan mikro-kanal bütünleşik algılayıcı tabanlar kullanılmıştır.

ICP prosesi ile cam yüzeyine geçirilmiş olan kırınım ağı yapıları, yüzeyleri plazmonlarını uyarıcı ince metal tabakasıyla kaplanıp üzerine mikro-kanallı PDMS yapısı bütünleştirildikten sonra optimize edilmiş olan prob (0.5µM) ve hedef (2µM) derişimleri kullanarak aynı deneyler kıyaslama yapmak amacıyla tekrarlanmıştır.

PDMS mikro-kanal yapısının akış haznesi makro-kanallı yapıya kıyasla çok daha küçük bir alan kapladığından, yüzeye düşen ışık spotunun bu alan içerisinde kalabilmesi için optik olarak spot büyüklüğü küçültülmüştür. Bu değişimden dolayı bu deney serisinde okunan ışık şiddeti miktarları, önceki deney serilerindekine kıyasla azalmış bulunmaktadır (örneğin Şekil 6.21'de alt yüzeye geçen ışık şiddeti azami 40µA seviyelerine ulaşırken Şekil 6.24'teki grafikte azami 12µA okunmasının nedeni bu optik ayarlamaların yapılmış olmasıdır).

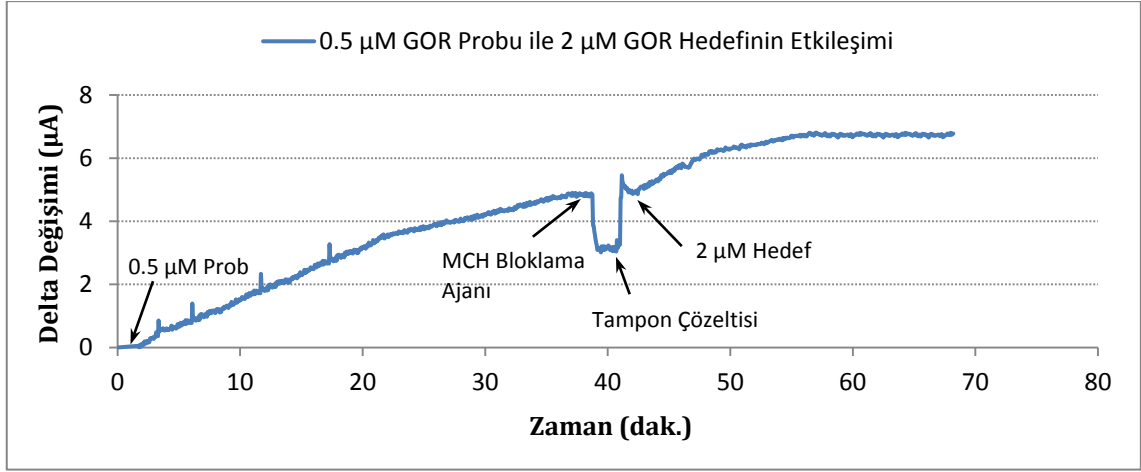
PDMS mikro-kanal yapısının akış haznesi makro-kanallı yapıya kıyasla çok daha küçük bir alan kapladığından, içerisinde geçirilen sıvı akış hızlarının ayarı çok kritik olabilmektedir. Sıvı akış sistemini gerçekleştirmek için kullanılan peristaltik pompa mekanizmasının sıvıyı ileriye doğru itmek için kullanmakta olduğu sıkıştırarak öteletme hareketi (peristaltik pompalar biyolojik olarak bağırsak sisteminin hareketini örnek almaktadır) sonucunda meydana gelen ileri-geri itme hareketleri, makro-ölçekli kanal

yapılarında sorunsuz çalışırken, sıvı akış hacminin görece çok küçük olduğu mikro-kanal yapılarında istenmeyen dalgalanma ve basınçlı püskürtme durumlarına sebebiyet verebilmektedir. Örneğin bu etki etkileşim öncesi ve sonrası alınan anlık okuma değerlerini göstermekte olan Şekil 6.24'te açıkça hissedilebilmektedir. Beklenmeyen miktarlarda gerçekleşen YPR eğrisi kaymalarını bu şekilde açıklamak mümkündür.



Şekil 6.24 Cam yüzeyine geçirilmiş kırınım ağı yapılarının bütünleşik mikro-kanal yapısı ile birlikte kullanıldığı tekrarlamalı kıyaslama deney serisi: (a) 0.5μM prob immobilizasyonu, (b) 2μM hedef geçirilmesi. X-ekseni açısal tarama aralığını, Y-ekseni ışık algılayıcı tabana geçen ışık seviyesi miktarını (μA seviyesinde) göstermektedir.

Gerçekleşen etkileşimlerin genel seyri hakkında yorum yapabilmek için bu nedenden ötürü karakteristik YPR tepe grafiklerinin anlık sayısal değişimleri yerine YPR durumunun gerçekleştiği açı etrafında gerçek zamanlı olarak yapılmış olan açısal taramaların sonuçlarını incelemek yerinde olacaktır. Zira yukarıda bahsedilen anlık akış basıncı değişimlerinin etkisi, Şekil 6.25'te verilmiş olan uzun süreli ve gerçek zamanlı etkileşim analizi grafiklerinde gözardı edilebilecek düzeylerde kalmakta ve etkileşimlerin seyri hakkında yorum yapabilmek mümkün olabilmektedir.



Şekil 6.25 – Mikro-kanal içerisinde gerçekleştirilen etkileşim adımlarının algılayıcı tabanda yaratmış olduğu zamana bağlı değişimlerin gösterimi.

SONUÇ VE ÖNERİLER

‘Yüzey Plazmon Rezonansına dayalı biyo-algılayıcı tasarımı’ çerçevesinde bu doktora tezi dahilinde yapılan çalışmalara ilk olarak YPR uyarıcı yüzeylerde kullanılmakta olan prizma yapılarının alternatifi olabilecek olan kırınım ağı yapılarının hızlı ve pratik sonuçları olan özgün bir teknik kullanılarak üretilmesinin araştırılmasıyla başlanmıştır. Hazırlanan örnek algılayıcı tabanlar üzerinde ilk olarak YPR anının bir CMOS kamera yardımıyla sırasıyla hem yansıma hem de geçirme (transmisyon) modlarında yeterli hassaslıkta görüntülenerek işlenebilir işlenemeyeceği saptanmıştır. Çalışmaların devamında YPR durumu oluşturabilecek farklı kırınım ağı yapıları denenmiş, bu yapılar karakterize ve optimize edilmeye çalışılmıştır. Buna ek olarak farklı modlarda (yansıma ve transmisyon) gözlemlenecek birkaç farklı kırınım ağı substratı hazırlanmış ve bu yapılar üzerinde ilkesel denemeler yapılmıştır.

Bu aşamadan sonra YPR’nin gözlem modlarından olan transmisyon modunda çalışan, aynı zamanda düzlemsel bir geometriye sahip olacak şekilde bütünleştirilebildiğinden sistemin minyatürizasyon ve üretiminde büyük kolaylıklar sağlayacak olan temel mekanizmanın tasarım ve işleyişine odaklanılmıştır. Tez önerisinde öngörülmüş olan bu bütünleşik algılayıcı mekanizmanın temel olarak prensipte çalıştığı ve hassasiyet hesaplamaları tez çalışması sırasında yayınlanmış olan bilimsel makale içerisinde gösterilmiştir [68]: Bu çalışmada $\Lambda = 740$ nm olan gümüş kaplamalı kırınım ağı yüzeyinin 632.8 nm dalgaboyunda ışık kaynağı ile uyarıldığında ortaya çıkan rezonans açıları hesaplanmıştır. Birinci ve ikinci dereceden harmonik rezonansların, dielektrik ortam

indisi $n_d = 1.33$ iken $\Theta_R = 33.9^\circ$ ve 17.4° lerde olduğu hesaplanmıştır. Rezonans açıları NaCl çözelti ortamda teorik olarak sırasıyla 34.8° ve 16.6° lerine kaymıştır. Deneysel olarak tespit edilen kayma açılarının teorik hesaplamalara yakın benzerlik göstermektedir. Saf su ortamında $\Theta_R = 34.1^\circ$ ve 17.9° lerinde olduğu ölçülen birinci ve ikinci dereceli rezonanslar, NaCl ortamında $\Theta_R = 34.1$ ve 17.9 açlarına kaymıştır. Teorik hesaplamalara karşın rezonansların açısal hassasiyetleri 91 derece/RIU ve 83 derece/RIU olarak gözlemlenmiştir. Bu farklılığın hazırlanan ölçüm düzeneğinde rezonans açısı ölçümlerindeki sistemsel hatalardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Gerçek zamanlı ölçümlerde ise algılayıcı yüzeylere bütünleştirilmiş akış sistemi içerisinde saf su ve NaCl geçirilmiş ve ışık-akım değerleri takip edilmiştir. İnceleme açısı olarak ışık-akım miktarında değişikliklere yol açan ortam kırınım indisi yükselme anları seçilmiştir (ışık gelme açıları $\Theta_i = 35.6$ ve 17.1 iken). Işığın transmisyon eğrisindeki en yüksek eğimin bulunduğu andaki akım hassasiyeti deneysel olarak birinci derece harmonik için $7.37 \mu A/\text{derece}$, ikinci dereceden harmonik içinse $2.92 \mu A/\text{derece}$ olmuştur. Tüm hassasiyet ise birinci dereceden harmonikte $6.11 \times 10^{-4} \text{ Amper/RIU}$, ikinci dereceden harmonikte ise $2.42 \times 10^{-4} \text{ Amper/RIU}$ olarak hesaplanabilmiştir. Kullanılan algılayıcı mekanizma için gürültü sınırlı bir ölçüm yapıldığı varsayıldığında, saptanabilen asgari kırınım indisi değişiminin $5.61 \times 10^{-9} \text{ RIU/VHz}$ olacağı öngörülmüştür. Bununla birlikte lazer ışık kaynağının domine ettiği gürültüden ötürü, bu değer $6.3 \times 10^{-6} \text{ RIU/VHz}$ olarak tespit edilmiştir. Doğru akımda ölçülen ışık-akım gürültüsü teorik gürültü seviyesi olan 1.8 pA/VHz değerine karşın 1.7 nA/VHz seviyesinde olmuştur.

Çalışmaların ilerleyen aşamalarında tasarlanmakta olan bu bütünleşik mekanizma için en uygun olası akış kanallarının hem makro hem de mikro ölçekli olarak tasarımı ve üretimi üzerine uzun soluklu denemeler yapılmıştır.

Plazmonları uyarıcı kırınım ağı yapılarının kopyalanarak cam tabanlara transfer edilmesi araştırılmış ve bu işlemin olabilirliği ortaya konulmuştur. Üzerinde gömülü plazmon uyarıcı yapıların olduğu bu cam tabanların üzerine makro-kanal yapılarına alternatif olarak tasarlanarak üretilmiş olan PDMS mikro-kanal yapılarının sabit bir şekilde bütünleştirilebiliyor olması sağlanmıştır.

Elde edilen bu özgün ve bütünleşik algılayıcı mekanizmanın biyo-moleküler etkileşimleri algılayabilen bir biyo-sensör platformu olarak kullanılabileceğini araştırmak maksadıyla Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü ile ortak bir deneysel çalışmaya girişilmiştir.

Bir çeşit tehlikesiz Tüberküloz bakterisi olan MTB (Mycobacterium Tuberculosis) türünün DNA'sından sentetik olarak ürettirilmiş olan ve bu hastalıkla ilgisi bulunan ilgili sekansın, tek sarmallı bir dizi şeklinde önceden çalışılmış bir deney protokolü dahilinde, bütünleşik plazmonik algılayıcı platformunun kabiliyetlerini araştırmak üzere kullanılmasına başlanmıştır. Öncelikle algılayıcı yüzeylere Tüberküloz bakterisinin varlığını tespit edecek olan tek sarmallı dizi işaretçi olarak yerleştirilerek yüzey immobilizasyonu gerçekleştirilmiş, bu prob immobilizasyonları çeşitli farklı derişimlerde denenerek en anlamlı ve ideal sonuçları verecek olan derişimler tespit edilmiştir. Sonrasında da problemlerin tanınması beklenen hedef moleküller (yani Tüberküloz bakterisinin hastalık yaratan DNA sekansına ait tek sarmallı yapısının eşleniğini içeren diğer bir tek sarmallı yapı) algılayıcı yüzeyler üzerinden geçirilerek DNA hibridizasyonunun gerçekleşmesi için uygun koşullar sağlanarak, bu etkileşimler anlık ve gerçek zamanlı olarak takip edilmiştir.

Bahsi geçen bu etkileşim deneyleri hem makro hem de mikro ölçekli kanal yapıları içerisinde verilen sırayla tekrarlanmış, ortaya çıkan sonuçlar sergilenmiştir. Tamamlanması herşey yolunda gittiği takdirde iyimser olarak yaklaşık 6 saat süren deney protokol serileri, her farklı prob ve hedef molekül derişim örnekleri için defalarca tekrarlanmıştır. Sergilenmiş olan zamana bağlı ve anlık sensör cevapları, uzun süren bu deney adımları esnasında sürekli kaydı tutulan ve sadece bir deney serisine ait 78 bin satırlık metin dosyalarının biriktiği bir veritabanı içerisinde seçilerek ancak üzerinde herhangi bir manipulasyon yapmadan olabildiğince ham olarak çizdirilmeye çalışılmıştır. Elde edilen sensör cevaplarının kıyaslanabileceği MTB'ye ait DNA hibridizasyonunun YPR tekniğiyle ölçülmesine yönelik çalışmalara literatürde pek rastlanamamıştır. Bu nedenle sistemin ilkesel çalışırılığı açısından önceden bahsi edilmiş olan yayımlanmış ilgili bilimsel makalede yer alan hassasiyet değerlerine atıfta bulunmak yerinde, merak edildiği takdirde ise okuyucular için göz atmak yeterli olacaktır. Ancak ortak çalışma içerisinde girmiş olduğumuz Hacettepe grubu tarafından

yakın bir geçmişte tamamlanmış olan bir yüksek lisans tez çalışması dahilinde MTB'ye yönelik DNA hibridizasyonu protokolleri üzerine çalışmalar yapılmıştır, ilgili ölçümler piyasada laboratuvar kullanımına yönelik olarak bulunabilen ve geleneksel YPR tekniğiyle çalışan bir analiz cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve ortaya çıkan sonuçlar kıyaslandığı zaman (farklı ölçüm birimleri kullanılmış olmakla beraber) her iki kullanılan ölçüm mekanizmasının birbirine çok yakın çıktılar ürettiği görülmektedir [79].

Tartışma

Tasarlanmış olan bütünleşik plazmonik algılayıcı mekanizmada kullanılmış olan tasarım ve üretim tekniklerinin özgünlüğü üzerine:

Bu tez çalışması esnasında elde edilen olumlu sonuçlar bilimsel bir makale dahilinde derlenmiş ve bu makalede plazmonik transmisyon algılamasına dayalı bütünleşik düzlemsel bir sensör mekanizmasının başlıca özgün yönleri ve ümit vaad edici kabiliyetleri sergilenerek irdelenmiştir. Bu makale çerçevesinde iki-harmonikli bir kırınım ağ profili kullanılması durumunda güçlendirilmiş bir ikinci dereceden plazmonik rezonans uyarılması gerçekleştirildiğinin ortaya çıkarılmış olduğundan bahsedilmiştir. Foto-diyot tabakasından oluşturulan düzlemsel bir algılayıcı tabanın sisteme bütünleştirilmesine özellikle vurgu yapılarak, en uygun hale getirilmiş kırınım ağ yapılarının ve üzerine bütünleştirilen mikro-akışkan bir kanalın oldukça kolaylaştırılmış üretim yöntemleri gösterilmiş; bu bütünleşik düzlemsel yapının oldukça yüksek oranlarda minyatürizasyonu mümkün kıldığı açıklanmıştır.

Birinci ve ikinci harmonik rezonans eğrilerinin ortamın kırma indisi değişimlerine gösterdiği karakteristik bir davranışın var olduğu, bu eğrilerin birbirlerinden karakteristik bir şekilde uzaklaştığı ya da yakınlaştığı tespit edilmiştir. Bu davranış karakterize edildiği durumda, indis değişimlerinin herhangi bir ilave dayanak çizgisi veya referans ölçümüne gerek duyulmadan diferansiyel bir şekilde hesaplanabileceği öngörülmüştür.

Kırınım ağ ve onun altında bulunan foto-diyot alanının düzlemsel tasarımı, bunların üzerine bütünleştirilmiş olan mikro-akışkan kanalın istenilen bölgelerine algılayıcı sistemin yerleştirilebilmesi gibi eşsiz bir tasarım esnekliği sağlamaktadır. Mikro-akışkan

kanalın PDMS malzemesi kullanılarak üretilmesi durumunda litografik şekillendirme ile çok kanallı ve çok sıralı bir akışkan taban tasarımı yapmak mümkündür. Bu yöntemle hazırlanacak olan kanalın istenilen farklı bölgelerinde yukarıda bahsedilen esneklik çerçevesinde çeşitli algılayıcı alanlar oluşturmak pratikte olası görülmektedir.

Üzerinde çalışılan sistemin algılama yeteneğini ortaya koymak maksadıyla basit sıvı değişimlerinin yaratıldığı deneysel bir yaklaşım izlenmiştir. Literatürde prizma ya da dalga kılavuzu eşlemeli YPR algılayıcılarına kıyasla daha düşük bir hassasiyete sahip olduğu belirtilen kırınım ağı eşlemeli YPR algılayıcılarının önünde duran bu temel sınırlayıcı etken, bu çalışmalarımızda hassasiyetin kabul edilebilir ve tatmin edici bir seviyeye çekilmesiyle diğerleriyle yarışabilir hale getirilmiştir. Sıvı değişiminden kaynaklanan kırma indisi değişimleri etkili bir şekilde ölçülerek, çok iyi derecede tekrarlanabilen ve kararlı bir sensor cevabı olan, 2.2×10^{-8} RIU/VHz mertebelerindeki gürültü sınırlı teorik hassasiyet değerine kıyasla pratikte 6.3×10^{-6} RIU/VHz seviyesine eşdeğer bir kırılma indisi gürültüsü hesaplanmıştır.

Kullanılan cihaz için eşlenme şartının optimizasyonunun, algılama hassasiyetini daha da güçlendirmesi ihtimal dahilindedir. Nitekim, rezonans açısı Θ_R 'nin sıyırma açılara yaklaşması durumunda açısal hassasiyetin artacağı bilinmektedir [61]. $\cos(\Theta_R)$ yaklaşık 0.1 olacak şekilde farklı bir kırınım ağı periyodu ve uyarma dalgaboyu seçilmesi durumunda hassasiyetin bir büyüklük derecesi kadar artırılması mümkün olabilir. Ayrıca Romanato *et al.* [80, 81] çalışmalarında, kırınım ağının azimut açısı etrafında döndürülmesiyle daha büyük rezonans açısı kaymalarının (bu çalışmadaki 50 - 100 derece/RIU değerine kıyasla 800 derece/RIU değerine kadar) gerçekleştiğini bildirmiştir. Bu çalışmada kullanılan algılayıcı kırınım ağı mekanizması, CCD gibi bir dizi-detektörünün üzerine bütünleştirildiği takdirde, özellikle biyomoleküler etkileşim algılamaları gibi dizi-görüntülemesi gerektiren çalışmalarda kullanılabilecek niteliktedir.

Üretilmiş olan bütünleşik plazmonik algılayıcı mekanizmanın biyomoleküler etkileşimlerin analizinde kullanılabilirliği üzerine:

Bu çalışma çerçevesinde, basit ve kolay uygulanabilir bir üretim tekniği kullanılarak üretilen bu algılayıcı mekanizmanın, optik sensörle kırınım ağı eşlemeli plazmonik algılayıcı mekanizmanın entegrasyonu ile çok umut vaat edici hassasiyet ve sensör cevaplarına ulaşabileceği ihtimali sergilenmiştir. Bu yaklaşım, yüksek seviyelerde ufaltılabilecek olan uygun maliyetli bir YPR algılayıcısına yol vermektedir. Bu mekanizma, kırınım ağı yapısının sağlamış olduğu kazanımların tümünden faydalanmakta ve prizmalı YPR sistemleriyle kıyaslanabilir hassasiyet seviyelerine ulaşılabilmesi yolunda da kapıyı açık tutmaktadır. Bu haliyle, etiketlemesiz algılamanın tercih edilebileceği entegre lab-on-chip tasarımlarında kendisine uygulama alanı bulabilecektir.

Ulusal patenti alınarak uluslararası patent başvuruları beklemede bulunan bahsi geçen bütünleşik plazmonik algılayıcı mekanizmanın biyo-algılayıcı olarak kullanılabilirliğini ortaya koymak üzere anlatılan etkileşim deneyleri belirli bir protokol çerçevesinde gerçekleştirilmiştir. Pratik ve deneysel çalışmaların ağırlıklı olduğu bu tez çalışması dahilinde yapılan araştırmaların deneme-odaklı sonuçları sergilenmiştir. Bilimsel makalede anlatıldığı üzere ışık algılayıcı taban olarak kullanılmış olan foto-diyot yapısının laboratuvar koşullarında üretilmesi durumunun verimli bir şekilde çalışırılığı ortaya konulduktan sonra, çalışmanın ilerleyen aşamalarında ışık algılayıcı taban olarak hazır güneş pili (solar cell) parçalarının kullanılmasının yapılacak olan etkileşim deneylerinde çoklu kullanım ve sürekli yenileme aşamalarında pratik faydalar sağlayacağı görüldüğü için bu yöntem izlenmiştir. Biyomoleküler etkileşim deneylerinde bu pratik nedenlerden ötürü hazır tabanlar kullanılmış, tasarlanmış olan özgün plazmonik algılayıcı yapılar bu hazır tabanlara bütünleştirilmiştir.

Etkileşim deney protokolü olarak seçilmiş olan DNA hibridizasyonunun gerçek zamanlı görüntülenmesi ve incelenmesi aşamalarına gelindiğinde bu alanda YPR algılama platformlarının literatürde henüz çoğunlukla tercih edilip kullanılan platformlar olmadığı görülmektedir. Bunun başlıca nedenleri arasında moleküler etkileşim deneyleri üzerine çalışmalar yürüten bilim insanlarının biyoloji ve kimya temelli olarak

geleneksel anlamda kabul görmüş olan klasik ölçüm tekniklerine (ELISA, HPLC, QCM vs.) karşı gösterdikleri alışkanlıkların olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, genellikle mühendislik temelli bilim insanları tarafından geliştirilmekte olan algılayıcı platformların etkileşim kinetiği herkes tarafından bilinen genel geçer moleküler modeller (avidin-biotin-streptavidin gibi çok temel protein etkileşimlerinin izlenmesi gibi) üzerinden doğrulanması tercih edilmektedir.

Bahsi edilen bu zorlayıcı etmenlere rağmen elde edilmiş olan sonuçlar, kıyaslama yapılabilecek olası benzer deneylerin sonuçlarına, Hacettepe araştırma gurubunun benzer etkileşim denemelerinin sonuçlarında olduğu üzere, oldukça umut vaad edici yakın benzerlikler göstermiştir [74-79].

Diğer taraftan geliştirilmiş olan platformun bugün için endüstri standardı kabul edilmekte olan ve geleneksel prizmalı YPR sensör konfigürasyonu kullanan ticarileşmiş analiz cihazlarıyla mukayese edilmesi açısından, bu varolan sistemlerde kullanılan benzer etkileşim deneylerinin yapılması yerinde olacaktır. Bu şekilde, tasarlanmış olan algılayıcı mekanizmanın çalışma sınırları ve kabiliyeti rakamsal kıyaslamalı olarak daha net bir şekilde ortaya konulabilir.

Geliştirilmiş olan bütünleşik plazmonik algılayıcı platformun gerçek dünyada somut olarak kullanılabilir, katma değeri yüksek bir teknoloji ürünü olarak endüstriye transfer edilebilir bir şekle sokulması üzerine:

Bir doktora tezi çalışması esnasında ortaya çıkmakta olduğu görülen ümit verici gelişmelerin son kullanıcılara da fayda sağlayabilecek, somut olarak kullanılabilir bir ürüne dönüştürülebilmesi gayesiyle Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından da desteklenmiş olan bu tez çalışması vasıtasıyla ortaya mobil olarak kullanılabilmeye uyumlu bir cihaz prototipi ortaya çıkmıştır. Tze çalışmasına paralel olarak yürütülmekte olan bu projede, Android tabanlı mobil cihazlarla biyo-moleküler etkileşimlerin gerçek zamanlı takibinin yapılabildiği gelecek vaad eden bir aşamaya gelinmiştir.

Bu tez çalışmasının sonlandırılmasını takiben bahsi geçen bu projeye devam edilerek, algılayıcı platform için başka uygulama alanları yaratılması üzerine araştırma-geliştirme faaliyetlerine devam edilmesi planlanmaktadır. Bu bağlamda ilk olarak genel kabul görmüş ve kinetiği herkesçe bilinen bir etkileşim protokolünün platform üzerinde nihai validasyon amacıyla çalıştırılması kurgulanmıştır. Sonrasında ise Bilkent Genetik ve Moleküler Biyoloji bölümünde oldukça ölümcül olan spesifik bir akciğer tümörüne karşı tanı amaçlı geliştirilmiş olan protein setinin kullanıldığı, erken aşamada kanser tanısı yapabilecek olan bir plazmonik algılayıcı platformunun tasarlanması öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Schasfoort, B. M. ve Tudos, A. J., (2008). Handbook of Surface Plasmon Resonance, ISBN: 978-0-85404-267-8, RSC Publishing, Cambridge.
- [2] Maier, S. A., (2007). Plasmonics, fundamentals and applications, ISBN: 0-387-33150-6, Springer Verlag, Bath.
- [3] Hierlemann, A., (2005). Integrated Chemical Microsensor Systems In CMOS Technology, ISBN: 3-540-23782-8, Springer Verlag, Berlin.
- [4] Wilson, C.L. vd., (2005). Comprehensive Analytical Chemistry, ISBN: 9780444530523, Elsevier, Oxford.
- [5] Enderle, J., (2005). Introduction to Biomedical Engineering, ISBN: 978-0-12-374979-6, AcademicPress, Oxford.
- [6] Ramanavicius, A. vd., (2005), "Biomedical application of SPR biosensors, review", Acta Medica Lituanica, 12(3):1-9.
- [7] Homola, J., (2006), Surface Plasmon Resonance based sensors, ISBN: 3-540-33918-2, Springer, Heidelberg.
- [8] Chang, C. H. vd., (2004), "High fidelity blazed grating replication using nano imprint lithography", Journal of Vacuum Science Technology, American Vacuum Society, 22(6):3260-3264.
- [9] Karlsson, R., (2004), "SPR for molecular interaction analysis: a review of emerging application areas", Journal of Molecular Recognition, 17:151-161.
- [10] Ivarsson, B., (2007), "Analytical method and apparatus, for SPR instrumentation", patent, US: 7.262.866 B2.
- [11] Seely, J. F., vd., (2006), "Effeciency of a grazing-incidence off-plane grating in the soft-x-ray region", Applied Optics, 45(8):1680-1688.
- [12] Goray, L. I. ve Sadv, S., (2002), "Numerical modeling of coated gratings in sensitive cases", Optical Society of America TOPS, 75:365-379.
- [13] Goray, L. I., (2005), "Numerical Analysis of the efficiency of multilayer-coated gratings using integral method", Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, A(536):211-221.

- [14] Goray L. I., Seely J. F., (2002), "Efficiencies of master, replica and multilayer gratings for the soft-x-ray-extreme-ultraviolet range: modeling based on the modified integral method and comparisons with measurements", *Applied Optics*, 14(7):1434-1445.
- [15] Goray L. I., Seely J. F., (2005), "A non-scalar phenomenon of separation of plus and minus equal orders in wavelength observed under off-normal incidence with soft-X-ray-EUV multilayer-coated gratings", *European Optical Society Topical Meetings Digest Series, Diffractive Optics*, Warsaw.
- [16] Goray L. I. vd., (2006), "Spectral separation of the efficiencies of the inside and outside orders of soft-x-ray-extreme-ultraviolet gratings at near normal incidence", *Journal of Applied Physics*, 100:1-13.
- [17] Goray L. I. vd., (2006), "Multilayer resonant subwavelength gratings: effects of waveguide modes and real groove profiles", *Journal of Optical Society of America*, 23(1):155-165.
- [18] PC Grate, <http://www.pcgrate.com>, 15 Haziran 2011.
- [19] RW Woods, R. W., (1935), "Anomalous Diffraction Gratings", *Phys. Rev.*, 48:928-936.
- [20] Liedberg, B., Nylander C. ve Lunström, I., (1983), "Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing", *Sensors and Actuators*, 4:299-304.
- [21] Otto, (1968), "Excitation of Non-Radiative Surface Plasma Waves in Silver by the Method of Frustrated Total Reflection", *Z. Physics*, 216:398.
- [22] E. Kretschmann, (1971), "Die Bestimmung optischer Konstanten von Metallen durch Anregung von Oberflächenplasmaschwingungen", *Z. Physics*, 241: 313–324.
- [23] Hoa, X. D., Kirk, A. G. ve Tabrizian, M., (2007), "Towards integrated and sensitive surface plasmon resonance biosensors: A review of recent progress", *Biosens. Bioelectron.*, 23:151–160.
- [24] Rich, R. L., Myszk, D. G., (2008), "Survey of the year 2007 commercial optical biosensor literature", *Journal of Molecular Recognition*, 21(6):355–400.
- [25] Piliarik, M., Vala, M., Tichy, I. ve J. Homola, (2009), "Compact and low-cost biosensor based on novel approach to spectroscopy of surface plasmons", *Biosens. Bioelectron.*, 24:3430–3435.
- [26] Ouellet, E., vd., (2010), "Parallel microfluidic surface plasmon resonance imaging arrays", *Lab Chip*, 10:581–588.
- [27] Gurel, K., vd., (2009), "Resonant transmission of light through surface plasmon structures", *Appl. Phys. Lett.*, 94, 233102.
- [28] Salomon, L., vd., (2001), "Near-Field Distribution of Optical Transmission of Periodic Subwavelength Holes in a Metal Film", *Phys. Rev. Lett.*, 86(6):1110.

- [29] Lezec, H. J., Thio, T. Ve Pasteur, L., (2004), "Diffracted evanescent wave model for enhanced and suppressed optical transmission through subwavelength hole arrays", *Opt. Express*, 12(16):3631–3646.
- [30] Schröter, U. Ve Heitmann, D., (1998), "Surface-plasmon-enhanced transmission through metallic gratings", *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, 58(23), 15419.
- [31] Pang, L., Hwang, G. M., Slutsky, B. ve Fainman, Y., (2007), "Spectral sensitivity of two-dimensional nanohole array surface plasmon polariton resonance sensor", *Appl. Phys. Lett.*, 91, 123112.
- [32] Lesuffleur, A. H., Im, Lindquist N. C. ve Oh, S., (2007), "Periodic nanohole arrays with shape-enhanced plasmon resonance as real-time biosensors", *Appl. Phys. Lett.*, 90, 243110.
- [33] Ebbesen, T. W., vd., (1998), "Extraordinary optical transmission through sub-wavelength hole arrays", *Nature*, 391: 667.
- [34] Pipino, A. C. R., vd., (1996), "Surface-enhanced second-harmonic diffraction: Experimental investigation of selective enhancement", *Phys. Rev. B: Condens. Matter*, 53(7):4162.
- [35] Adam, P., Dostalek, L., Telezhnikova O. Ve Homola, J., (2007), "SPR sensor based on a bi-diffractive grating", *Proc. Of SPIE*, 6585, 2007, 65851Y–1.
- [36] Kocabas, A., Senlik, S. S. ve Aydinli, A., (2008), "Plasmonic band gap cavities on biharmonic gratings", *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, B77(19), 195130.
- [37] Neipp, C. vd., (2003), "Angular responses of the first and second diffracted orders in transmission diffraction grating recorded on photopolymer material", *Optics Express*, 11:16.
- [38] Simon, H. J., Mitchell, D. E. ve Watson, J. G., (1974), "Optical second-harmonic generation with surface plasmons in silver films", *Phys. Rev. Lett.*, 33(26):1531–1534.
- [39] Scheller, F. vd., (1989), "Research and development of biosensors. A review", *Analyst*, 114:653-662, DOI: 10.1039/AN9891400653.
- [40] Luong, J. H.T. vd., (2008), "Biosensor technology: Technology push versus market pull", *Biotechnology Advances*, 26:492-500.
- [41] Mohanty, S. P. ve Kougiannos, E, (2006), "Biosensors: a tutorial review", *Potentials, IEEE*, 25(2):35-40.
- [42] Clark, L. C. ve Lyons, C., (1962), "Electrode Systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery", *Annals of the New York Academy of Sciences*, 102:29–45.
- [43] Grieshaber, G. vd., (2008), "Review: Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures", *Sensors*, 8(3):1400-1458.

- [44] Lec, R. M., (2001), "Piezoelectric biosensors: Recent advances and applications", IEEE International frequency control symposium and PDA exhibition, Seattle, 6-8 Haziran 2001, Seattle, WA.
- [45] Ramanathan, K. ve Danielsson, B., (2001), "Principles and applications of thermal biosensors", Biosensors and Bioelectronics, 16(6):417–423.
- [46] Borisov, S. M. ve Wolfbeis, O. S., (2008), "Review: Optical Biosensors", Chem. Rev., 108 (2):423–461.
- [47] Wang, J., (2006), "Electrochemical biosensors: Towards point-of-care cancer diagnostics", Biosensors and Bioelectronics, 21(10):1887–1892.
- [48] Shao, Y. vd., (2010), "Graphene Based Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review", Electroanalysis, 22(10):, 1027–1036.
- [49] Pingarrón, J. M. ve Cortes, A., (2008), "Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors", Electrochimica Acta, 53(19):5848–5866.
- [50] Bunde, R. L. vd., (1998), "Piezoelectric quartz crystal biosensors", Talanta, 46(6):1223–1236.
- [51] Lec, R.M. ve Lewin, P.A., (1998), "Acoustic Wave Biosensors", Proceedings of 20th Annual IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 20(6):2785-279.
- [52] König, B. ve Gratzel, M., (1995), "A Piezoelectric Immunosensor for Hepatitis Viruses", Analytica Chimica Acta, 309:19-25.
- [53] Guilbault, G.G. vd., (1983), "Enzyme electrode and thermistor probes for determination of alcohols with alcohol oxidase", Anal. Chem., 55:1582–1585.
- [54] Mandenius, C. vd., (1985), "Monitoring and control of enzymic sucrose hydrolysis using on-line biosensors", Appl. Microbiol. Biotechnol., 21:135–141.
- [55] Amine, A. vd., (1995), "A microdialysis probe coupled with a miniaturized thermal glucose sensor for in-vivo monitoring", Anal. Lett., 28:2275–2286.
- [56] Mandenius, C. vd., (1981), "Process control of an ethanol fermentation with an enzyme thermistor as a sucrose sensor", Biotechnol. Lett., 3:629–634.
- [57] Preininger, C. ve Danielsson, B., (1996), "Thermometric determination of copper (II) using acid urease", Analyst, 12:1717–1720.
- [58] Fan, X. vd., (2008), "Sensitive optical biosensors for unlabeled targets: A review", Analytica Chimica Acta, 620(1–2):8-26.
- [59] Homola, J., (2003), "Present and future of surface plasmon resonance biosensors", Anal Bioanal Chem, 377:528–539.
- [60] Nenninger, G.G. vd., (2001), "Long-range surface plasmons for high-resolution surface plasmon resonance sensors", Sensors and Actuators B: Chemical, 74(1–3):145–151.
- [61] Homola, J., vd., (1999), "Surface plasmon resonance sensors: review", Sensors and Actuators B: Chemical, 54(1–2):3–15.

- [62] Lundström, I., (1994), "Real-time biospecific interaction analysis", *Biosensors and Bioelectronics*, 9(9–10):725-736.
- [63] Kaplan, B. vd., (2009), "Tuning optical discs for plasmonic applications", *Plasmonics*, 4:237-243.
- [64] International Intellectual Group, Inc., PC Grate, <http://www.pcgrate.com>.
- [65] Kocabas, A., Ay, F., Dana, A. vd., (2006), "An elastomeric grating coupler", *Journal of Optics A-Pure and Applied Optics*, 8(1):85-87.
- [66] Guner, H., (2011). Surface plasmon resonance based MEMS displacement sensors, Yüksek Lisans Tezi, Bilkent Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [67] Korvink, v.J. ve Oliver, P., (2006), "MEMS, a practical guide to design, analysis and application", Springer, ISBN: 3-540-21117-9, Heidelberg.
- [68] Turker, B., Guner, H., Dana, A. vd., (2011), "Grating coupler integrated photodiodes for plasmon based sensing", *Lab Chip*, 11:282-287.
- [69] Sjölander, S. ve Urbaniczky, C., (1991), "Integrated fluid handling system for biomolecular interaction analysis", *Analytical Chemistry*, 63(20):2338-2345.
- [70] Abgrall, P. ve Gue, A., (2007), "Lab-on-chip technologies: making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem – review", *J. Micromech. Microeng.*, 17:p.15-49.
- [71] Agarwall, M. vd., (2005), "Sum-free patterning of SU-8 resist for electroforming applications", *J. Micromech. Microeng.*, 15:130-135.
- [72] Safavieh, R. vd., (2010), "Straight SU-8 pins", *J. Micromech. Microeng.*, 20:9.
- [73] Abgrall, P. vd., (2007), "SU-8 as a structural material for labs-on-chips and mems – review", *Electrophoresis*, 28:4539-4551.
- [74] Demirel, G., Caglayan, M., Garipcan, O. B., Duman, M., Piskin, E., (2007), "Oriented immobilization of IgG by a multiple-step process based on self-assembly approach", *J. Mater. Sci.*, 42:9402-9408.
- [75] Demirel, G., Caglayan, M., Garipcan, O. B., Piskin, E., (2008), "A novel DNA biosensor based on ellipsometry", *Surface Science*, 602:952-959.
- [76] Caglayan, M. O. vd., (2009), "Stepwise formation to improve ellipsometric biosensor response", *Nanomedicine*, 5:152-161.
- [77] Duman, M. vd., (2009), "Detection of Mycobacterium Tuberculosis Complex using surface plasmon resonance based sensors carrying self-assembled nano-overlayers of Probe Oligonucleotide", *Sensor Letters*, 7:1-8.
- [78] Duman, M. ve Piskin, E., (2010), "Detection of Mycobacterium tuberculosis complex and Mycobacterium gordonae on the same portable surface plasmon resonance sensor", *Biosensors*, 26(2):908-912.
- [79] Guvener, N., (2011). Fotolitografi ve mikrosptlama ile array platformlarının hazırlanması ve uygulamaları, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- [80] Romanato, F. vd., (2009), "Sensitivity enhancement in grating coupled surface plasmon resonance by azimuthal control", Opt. Express, 17(14).
- [81] Romanato, F. vd., (2010), "Polarization optimization for a full sensitivity in azimuthal grating coupled surface plasmon resonance", Sens. Actuators, B, 148:181–185.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Burak TÜRKER
Doğum Tarihi ve Yeri : 04.08.1978
Yabancı Diller : İngilizce ve Almanca (ileri seviye),
Fransızca (orta seviye), Rusça ve Çince (temel seviye)
E-posta : btuerker@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Haberleşme ve Medya Müh.	Hochschule Offenburg	2005
Lisans	Elektronik Müh.	İstanbul Üniversitesi	2001
Lise	Fen Bilimleri	Isparta Anadolu	1996

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2012-devam	Nanosens Ltd. Teknogirişim Firması	Kurucu, CEO
2007-devam	Afyon Kocatepe Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2003-2005	Hochschule Offenburg / ASIC Lab	Araştırmacı
1996-2001	BEKO/Netaş/Türk Telekom	Stajer

YAYINLARI

Makale

1. B.Turker, H.Guner, S.Ayas, O.Ekiz, H.Acar, M.O.Guler, A.Dana; 'Grating coupler integrated photodiodes for plasmon based sensing', 2011, Lab Chip, 11, 282-287

Bildiri

1. B.Turker, N.Guvener, H.Guner, S.Ayas, O.O.Ekiz, E.Piskin, A.Dana; 'Optimized DVD substrates as label-free biomolecular affinity sensors', 2011, 27-30 Haziran, NANOTR7, Sabancı Üniversitesi, İstanbul.

2. B.Turker, H.Guner, S.Ayas, O.O.Ekiz, H.Acar, M.O.Guler, A.Dana; 'Grating coupler integrated photodiodes for plasmon resonance based sensing in fluidic systems', 2011, 1-6 Mayıs, CLEO (Conference on Laser and Electro-Optics), Baltimor, ABD.

3. B.Turker, N.Guvener, H.Guner, S.Ayas, O.O.Ekiz, H.Acar, M.O.Guler, E.Piskin, A.Dana; 'DNA sensing with optimized DVD substrates', 2011, 21-26 Mayıs, SPIE European Conferences on Biomedical Optics, Münih, Almanya.

4. B. Turker, H.Guner, S.Ayas, O.O.Ekiz, H.Acar, M.O.Guler, A.Dana; 'Plasmon integrated photodiodes for biomolecular interaction analysis in microfluidic systems', 2010, NANOTR6, İzmir YTE, Çeşme.

Proje

1. B.Turker, 'Minyatürize edilmiş çok amaçlı biyosensör', 2012, T.C. Bilim, Sanayi ve Ticaret Bakanlığı Teknogirişim Sermayesi Desteği Projesi.

Ödüller

1. SEIS (Sağlık Endüstrisi İşverenleri Sendikası), 'V. Ulusal Tıbbi Cihaz Yarışması'nda birincilik ödülü, 2011, Mart, İstanbul.

2. ODTÜ 'Yeni İşler Yeni Fikirler Yarışması', Savunma Sanayii Müsteşarlığı Özel Ödülü, 2011, Kasım, Ankara.

3. SPIE (International Society for Optics and Photonics) Photonics Europe Konferansı 'İnovasyon Köyü' yarışmasında ikincilik ödülü, 2012, Nisan, Brüksel, Belçika.

4. TET (Türkiye Elektronik İhracatçıları Birliği) Ar-Ge Proje Pazarı yarışmasında ikincilik ödülü ve Nanoteknoloji dalında Üstün Başarı Ödülü, 2012, Mayıs, İstanbul.

5. Inovita Ar-Ge Projeleri sunumları kapsamında desteklenmeye uygun görülme, 2012, Şubat, Boğaziçi Üniversitesi Kandilli Yerleşkesi; GE Healthcare Departmanı stratejik yatırımlar biriminin temsilcilerine sunum yapma daveti, 2013, Haziran, Boğaziçi Üniversitesi Inovita Yapılanması, Kandilli Yerleşkesi, İstanbul.

Patent

1. B.Turker, H.Guner, O.O.Ekiz, A.Dana; 'Plazmon bütünleşik algılayıcı mekanizma', Ulusal patenti, 2012, Ankara; ve ilgili buluşun devam ettirilmemiş PCT başvuruları.