Nanotel Bazlı Nanoaralık Elektrotlarla DNA'nın

Öz Elektriksel İletkenliğinin Ölçülmesi

Program Kodu: 1001

Proje No: 116E251

Proje Yürütücüsü:

Dr. Ramazan KIZIL

Bursiyer:

Susan Alkinani

Haziran 2020

İSTANBUL

ÖNSÖZ

116E251 numaralı bu projede DNA'nın öz iletkenliğini doğrudan ölçmekte kullanmak üzere çip üstü nanotel tabanlı nanoaralık elektrotlar üretilmiş ve bu elektrotlar kullanılarak DNA'nın tek sarmal ve çift sarmal durumlarında öz iletkenliği akım gerilim (I-V) ölçümleriyle belirlenmiştir. Nanoteknolojik yaklaşımlar geliştirerek çip üstünde DNA molekülünün elektriksel karakterizasyonunu yapabilen çip üstü nanotel elektrotlar başarıyla kullanarak çift sarman DNA'da koherent tünelleme yoluyla gerçekleşen yük aktarımı başarıyla ölçülmüştür. Elektriksel ölçümlerde nanotel elektrotların boşluk kısmında tel üzerine kimyasal yoldan bağlanan DNA molekülleri çıplak Au nanoparçacıklarla kıstırılarak kararlı ve tekrarlanabilir elektriksel ölçümler gerçekleştirilebilmiştir. Bu özel ölçme tekniği ile moleküler elektronik alanında I-V ölçümleri için kolaylaştırılmış ve cazip bir yaklaşım başarıyla sergilenmiştir.

Tamamı TÜBİTAK tarafından desteklenmiş olan bu çalışmada mikroçip üretimi ve diğer mikrofabrikasyon işlemleri Penn State Üniversitesi Nanofabrikasyon Tesisinde gerçekleştirilmiş, nanotel üretimi, çip üstü nanotel cihazlarının üretilmesi, nanotel elektrotlara DNA yüklenmesi ve elektriksel karakterizasyon İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya-Metalurji Fakültesi Nanomalzeme Sentez ve Elektrik-Elektronik Fakültesi Duran Leblebici VLSI Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Projemizin başarısındaki en büyük etkenlerden biri de TÜBİTAK desteğidir. Öneride istenen bütçeden büyük kesintiler yapılmış olsa da yurtdışı ortak çalışmalar ve EEEAG yönetim ve proje izleme biriminin anlayışlı tavrı ile proje başarıyla tamamlanmaya çalışılmıştır. Proje ekibi olarak TÜBİTAK'a maddi destekleri ve EEEAG birimine olumlu ve anlayışlı yaklaşımları için içten teşekkürlerimizi sunarız.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ii
İÇİNDEKİLER 3
Tablo Listesi 4
ŞEKİL LİSTESİ 5
ÖZET 7
ABSTRACT 8
1. GİRİŞ 9
2. GENEL BİLGİLER 10
2.1 Literatür özeti 12
2.1.1 Nanogap Elektrotlar 12
2.1.2 Nanogap Elektrotlarda DNA'nın Elektriksel Karakterizasyonu: 13
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER: 22
3.1. Mikroçip Tasarım ve Üretimi: 22
3.2. Elektrokimyasal Birikim Tekniği ile Nanotel Üretilmesi 23
3.3. Nanoaralık Nanotel Elektrot "NANOGAP" Üretimi 25
3.4. Nanogap Elektrotlarda DNA'nın Elektriksel Davranışının İncelenmesi 27
4. BULGULAR ve TARTIŞMA 28
4.1 Çip Üstü Mikroelektrot Çift Dizinleri Karakterizasyonu 29
4.2. Nanotelin Karakterizasyonu 31
4.3. Nanotellerin Mikroçipe Entegrasyonu 33
4.4. Nanotel Nanoaralık Elektrot Üretimi ve Karakterizasyonu 34
4.5. Nanotel Elektrotlarla DNA'nın Öz İletkenliğinin Belirlenmesi 37
4.5.1. Tek sarmal DNA (ssDNA)'nın Öz İletkenliğinin Doğrudan Ölçülmesi 38
4.5.2. Çift sarmal DNA (dsDNA)'nın Öz İletkenliğinin Doğrudan Ölçülmesi 40
4.5.2. DNA Hibritleşmesinin Çip Üstünde Karakterizasyonu 45
5. SONUÇ 47
ÖNERİLER 49
KAYNAKLAR 50

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. DNA'da elektron transportunu açıklamakta kullanılan iletim mekanizmaları (Kassagne vd., 2014)..... 16

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Nanoboşlukta DNA'nın elektriksel karakterizasyonu için yapılan ilk çalışmada kullanılan 8 nm mesafeyle birbirinden ayrık nanogap elektrot sistemi ve gerçekleştirilen akım-gerilim ölçümleri (Porath vd., 2000) 14
Şekil 2.2 8 nm'lik nanoboşlukta DNA'nın hapsedilmesi ve kriojenik koşulda vakum altında gerçekleştirilen akım-gerilim ölçümleri (Porath vd., 2000) 15
Şekil 2.3. Kang vd.,(2008) tarafından oluşturulan mekanik olarak kontrollü kırılmış elektrot sistemlerinde DNA'nın sıvı ortamda elektriksel tespiti çalışması ve bazı sonuçları. 16
Şekil 2.4. Elektromigrasyon yolu ile 5nm mesafeli nanoaralık elektrot üretimin (sol) ve Nanoaralıkta iki ayrı tek sarmal DNA'nın (seq1 ve seq3) kontrol (tiyol ile metala tutturulmamış) ve tiyol ile metale bağlanmış durumlarda i-v davranışı (Iqbal vd., 2005). 18
Şekil 2.5. elektromigrasyon ile oluşturulan 5 nm kırık üstünde 15 baz çiftli çift-sarmal DNA köprüsü ve bu moleküler köprünün ortam koşulunda (a) ve azot atmosferinde (b) I-V ölçüm verileri (Mahapatro vd., 2009). 19
Şekil 2.6. DNA'nın akım-gerilim ölçümleri ile tespitine dayalı bir elektriksel yaklaşım (Park vd., 2002). Üst soldan-sağa: elektrot arası boşluğa tutuklayıcı (capture) DNA dizilimi yerleştirilmesi, tutuklayıcı ve prob DNA dizilimine yarı-yarı eşlenik hedef (target) DNA ve bir altın nanoparçaçığa bağlanmış prob DNA arasındaki etkileşimler, elektriksel karekterizasyon için elektrot arasında gümüş birikimi. Aşagı soldan-sağa:kullanılan DNA dizilimleri ve elektrot dizaynı 21
Şekil 2.6. Dikey nanogap elektrotlarda DNA tespiti ve I-V ölçümleri için gümüş ile DNA'yı metalik hale getirme işlemi (Roy vd., 2009) 22
Şekil 3.1. Nanoaralık elektrot üretmek için kullanılan çipin her katmanını ayrıntılı gösteren teknik şeması. 22
Şekil 3.2. Silikon yonga üzerinde üretilen elektrot dizinleri. 5x10 formatında hazırlanan elektrot çifti dizinlerinden 3x3 lük kısmın 2.5X optik büyütme görüntüsü (sol) ve tek bir elektrot çiftinin 100x optik büyütmede görüntüsü (sağ) 23
Şekil 3.3. Elektrobirikim yöntemi ile üretilmiş 60 sn birikim süresinde Ag segman içeren 6 □m uzunlugunda 320 nm çapında Au-Ag-Au nanotellerin 50x optik (üst) ve 10000x SEM (alt) görüntüleri. 24
Şekil 3.4. Gümüş birikim süresini düşürerek daha dar aralıklı nanogap elektrotların hazırlanabileceğini gösteren elektron mikroskopi görüntüsü. 25
Şekil 3.5. Nanotellerin elektrofluidik yoldan elektrotlar arasına yönlendirmesinde kullanılan düzenek:Üstte bir osiloskop, altında işaretleyici ve işaretleyiciden çıkan sinüsoidal işaretin şiddetini artırmak için kendi imal ettiğimiz 10x voltaj artırıcı. 26
Şekil 3.6. Nanotel üstündeki kırık, bu kırığın DNA ile doldurulması ve prob istasyonunda bir parametre analizörü ile gerçekleştirilen I-V ölçüm sonucu 27
Şekil 3.7. Nanoboşluk elektrotlarda DNA'nın elektriksel tespitini gerçekleştirmeye yönelik önerilen yaklaşım. Üstten-altta: Nanotellerin çipe entegrasyonu ve telin aşındırılması ile nanoboşluk elektrot hazırlanışı. Birbirine eşlenik üç ayrı DNA dizilimlerinin birbirleriyle eşleşerek nanoboşluğun DNA ve Altın nanoparçacık ile kapatılması ve bu etkileşimin akım-gerilim ölçümleri ile tespiti. SEM görüntüsü elektronik ölçümlerin alınacağı nanoparçacık ile kapatılmış bir nanoboşluk elektrotu göstermektedir (Kizil, 2013). 28

Şekil 4.1 8” Si-yonga üzerinde üretilmiş çikroelektrot çiftleri dizin çipi ve elektrotların sırası ile 200x, 25x ve 500x büyütme ile görüntüleri (üst) 500x büyütme ile verilen elektrot çiftinin oda koşulunda atmosferik ortamda elektriksel I-V grafiği (alt) 30
Şekil 4.2 Galvanostatik koşulda 60, 22 ve 8 sn sürelerde Ag birikimi yapılmış Au-Ag-Au nanotellerin 100X mercek altında karanlık ve aydınlık bölge görüntüleri. 32
Şekil 4.3 Au-Ag-Au nanotellerin SEM görüntüleri ile uzunluk tespiti ve zamanla aşınan Ag bölge..... 33
Şekil 4.4. Au-Ag-Au formunda nanotollerin dielektroforez yöntemi ile elektrotlar arasına hizalanması ve sonrasında ince bir Au katmanı ile sabitlenmesi. Sabitlenmiş bir nanotelin ohmik I-V davranışı ölçülmüştür. 34
Şekil 4.5. Direk DC voltaj rampası uygulandığında oluşan elektrogöç ile nanotelin kopması ve kopma olayını sağlayan akım-gerilim ilişkisi. 35
Şekil 4.6. Feedback kontrollü elektrogöç uygulamada kullanılan algoritma (Motto vd., 2012). 36
Şekil 4.7. Nanotele feedback kontrollü elektrogöç uygulayarak nanokırık (nanoaralık) elde edilmesi, işlem sırasında voltajdaki değişimler ve nanokırık oluştuktan sonra boşluğun yalıtkan “open, açık” I-V davranışı. 37
Şekil 4.8. Nanotele yerleştirilmiş ssDNA’nın nir Au nanoparçacık ile kapatılması durumunda ölçülen I-V davranışı 38
Şekil 4.9. DNA kaplı Nanotelde boşlupun bir AuNP ile kapatılması. 40
Şekil 4.10. Çift-sarmal 12 baz çiftli DNA’nın I-V davranışı. 41
Şekil 4.11 Oda koşulunda tekrar edilen I-V ölçümleri 42
Şekil 4.12. DsDNA’dan 3 gün sonra tekrarlanan I-V ölçümü 42
Şekil 4.13. Nanotel üzerinde dsDNA’nın ystı iletken karakterli I-V ölçüm sonucu. 44
Şekil 4.14. dsDNA’nın NDR tipi I-V davranışı 45
Şekil 4.15. Nanoelektrot üzerinde DNA hibritleşmesinin I-V ölçümü sonucu. 46

ÖZET

TÜBİTAK 116E251 no'lu araştırma projesinde DNA'nın öz iletkenliği doğrudan Au-nanotel tabanlı nanoskopik nanoaralık üretilerek akım-gerilim ölçümleriyle belirlendi ve DNA'da elektron iletim mekanizmasını anlamakta faydalı bilgiler elde edildi.

DNA'nın doğrudan öz iletkenliğini ölçmek için nanometre mertebesinden birbirinden ayrık "nanogap" elektrot çiftleri kullanılması ve bu elektrot çiftlerinin de kolay yoldan makroskopik ölçüm cihazlarına bağlanması gereklidir. Bu projede nanogap elektrotlar, Si-yonga üzerinde klasik optik litografi yöntemiyle hazırlanan birbirine paralel 50 adet mikroelektrot çiftleri baz alınarak hazırlanmıştır. Bu proje için özel 7-8 mikrometre uzunluğunda ve 250-300 nm çapında silindirik Au-Ag-Au nanoteller sabit akım "galvanostatik" altında elektrokimyasal birikim yöntemiyle üretilmiş ve nanogap elektrot olarak görev yapmaları sağlanmıştır. Bu nanotellerin nanogap elektrotlara dönüştürülmesi için birinci basamakta teller elektrofluidik yöntemle AC alan altında yonga üstündeki mikroelektrot elektrotların arasına tek-tel formunda yerleştirilmiştir. İkinci basamakta yongaya elektrofluidik yoldan entegre edilen nanotellerde ince gümüş (Ag) bölge kimyasal aşındırma veya elektromigrasyon ile uzaklaştırılarak nanogap elektrotlar üretilmiştir. Bu iki basamaklı yaklaşımla birbirinden 6 mikrometre mesafede ayrılmış mikroelektrot çipleri artık elektrot arası mesafenin 50-200 nm seviyesine indirgendiği nanotel nanogap elektrotlara dönüştürülmüştür. Her iki ucu tiyol (SH) gurubu taşıyan DNA moleküllerini kovalent yoldan nanoteller üzerine bağlanmıştır. Nanotel üzerinde bulunan boşluk elektrofluidik yoldan 250 nm Au nanopartikül ile doldurularak DNA-AuNP-DNA jonksiyon/eklemin elektriksel karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu eklemin elektronik davranışı mikroçip baz elektrotların prob istasyonu üzerinde yarıiletken parametre analizörüne bağlanmasıyla femto-piko amper çözünürlüğünde incelenmiştir. Çift-sarmal DNA'da iletkenliğin tek-sarmalda olana göre orbitallerin π-istiflenmesi nedeniyle iyileştiği, metal-molekül kontağın önemi ve kararlığı ve DNA'da yarı-iletken veya negatif diferansiyel rezistans gibi özel davranışlar gösterilmiştir.

Bu projede DNA gibi biyolojik bakımdan önemli molekülün kendi öz iletkenlik özelliğinden yararlanarak çip üstünde tek ve çift sarmal formalarında I-V ölçümleri ile elektriksel yoldan saptanabileceğini gösterildi. Bunun için nanotel tabanlı nanoaralık elektrotlar hazırlandı ve DNA moleküler eklemin öz iletkenliği ve elektronik davranışı DC modunda ve düşük verevde I-V ölçümleriyle incelendi.

Anahtar Kelimeler: Moleküler Elektronik, DNA, Nanoelektronik, Mezoskopik Fizik, Moleküler Eklem, Nanotel

ABSTRACT

Within the 116E251 coded TÜBİTAK Project, the intrinsic conductivity of DNA was determined directly from its I-V behavior using Au-nanowire based nanogap electrodes. In addition to direct I-V measurements of short DNA strands, the electron transport mechanisms through DNA were elucidated.

For direct measuring the intrinsic conductivity of DNA, it is inevitable to use electrodes small enough to integrate molecular scale entities within the contact electrodes and connect the electrode-molecule junction to a macroscopic measuring unit. We created 50 microelectrode pairs in parallel on a p-type silicon with 250 nm oxide layer using classical optical lithography techniques. The electrodes were used to electrofludically assemble metallic, stripped, 7-8 um long and 250-300 nm diameter (Au-Ag-Au) nanowires dispersed in ethanol which were synthesized using sequential galvanostatic electrodeposition using commercially available ceramic alumina templates. After aligning the nanowires across the fingers of the electrodes on-chip, we treated them as our nanogap electrodes since the sacrificial Ag layer in the wire can easily be chemically etched or removed by electromigration. Preferring electromigration over chemical etching, we created gaps ranging around 50 to 200 nm in the nanowires, forming the desired nanogap electrodes for electrical characterization of DNA. Thiolated DNA's with 15 and 12 base pairs were used for the self-assembly of the molecule on the nanowire. The gap in the wire then was closed by a single (or multiple in several samples) 250 nm Au nanoparticle (AuNP) using dielectrophoresis in water. Enclosing the gap in the nanowire by a single AuNP helped us form stable and reliable nanowire/DNA/AuNP/DNA/nanowire in the form of double-barrier electron tunneling junction. We used these junctions to investigate electronic properties of DNA by connecting the microelectrodes on which nanowires were captured to a semiconductor parameter analyzer for I-V characterization at femtoamper resolution at the best condition.

In this project we have prepared a new nanogap fabrication technique using nanowires as the main component and devised a double-barrier molecular junction approach to measure intrinsic conductivity of DNA molecules in double and single stranded (ds/ss) form. We showed the improved conductivity of dsDNA due to π-stacking of molecular orbitals, the effect of junction quality and stability on the measurements repeatability, and semiconductive and negative differential resistance behavior of DNA conducting I-V measurements at low bias DC mode.

Keywords: Molecular Electronics, Nanoelectronics, Mesoscopic Physics, Molecular Junction, Nanowire

1. GİRİŞ

Bu projenin çalışma konusu yeni ve kullanışlı nanogap elektrot geliştirerek DNA'nın elektriksel özelliklerini belirlemektir. DNA'nın intrinsik iletkenliğinin doğru akım modunda I-V ölçümleri ile gerçekleştirilmesi incelenecek ve literatür incelemesi bununla sınırlı tutulacaktır. Yani alternatif akım i-v ölçümü veya alan etkili transistör (FET) yaklaşımı kapsam dışıdır. Ayrıca elektrokimyasal sensörler, FET ve ISFET sensörleri kapsam dışıdır. Çalışma DNA immobilizasyonu ve hibritleşme konularını da kapsamaktadır. Ayrıca nanoteknolojinin bottom-up assembly approach diye tabir edilen tabandan dizme yaklaşımı ve özellikle dielektroforez önem arz eden bir kapsam alanıdır. Top down- yöntemlerinden olan elektromigrasyon da bu çalışmada yararlanılacak bir başka konudur

Bu projenin çalışma konusunu kanser teşhisinde biyomühendislik yaklaşımı kullanarak tümörlerin moleküler seviyede belirlenmesi ve görüntülenmesidir. Kanser, diğer tüm hastalıklarda olduğu gibi bulunduğu dokuda kimyasal kompozisyon değişimi/bozukluğu oluşturan bir durumdur. Bu bilgiden yola çıkarak moleküler teknolojiler kullanarak sağlanan bilgi ve görüntülerden bir dokuda oluşan kimyasal kompozisyon değişimlerine karşılık gelen hastalık türü ve derecesinin tayini son yıllarda büyük önem kazanmıştır (Diem vd., 2013). İnfrared spektroskopi tekniği kimyasal kompozisyonun moleküler seviyede ayrıntılı şekilde belirlenmesi için kullanılabilecek etkili bir yöntemdir. Moleküler titreşim enerjisi algılamaya yönelik bu spektroskopi tekniğinde maddenin/dokunun kimyasal kompozisyonunu moleküler parmak izi bilgisi verecek şekilde hassas olarak inceler. Kanser kaynaklı moleküler değişikler işte bu tekniklerin ölçtüğü spektrumlar üzerinden kimyasal olarak incelenebilir. Bu projede meme kanserinin moleküler belirteçleri ayrıntılı kimyasal kompozisyon bilgilerinden yola çıkılarak incelenmiş ve özellikle kanser oluşumu kaynaklı DNA/RNA'da gözlenen kompozisyon değişimi kullanarak sağlıklı dokular kemometrik modeller geliştirilerek tümörden ayırt edilmiştir. Spektroskopik bilgilere dayalı olarak kanser tanısı yapmak ve tümörü sağlıklı dokudan hızlı şekilde ayırt etmeye yönelik kemometrik modeller geliştirilmiş ve başarı ile uygulanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Son zamanlarda baş gösteren ölümcül COVID-19 pandemisinde açıkça yaşandığı gibi, bir canlıda gen (DNA) diziliminin belirlenmesi kritik önemdedir. Özellikle adli tıp uygulamaları, canlı türlerde gen analizi ve genetik bozuklukların hızlı ve duyarlı şekilde belirlenmesi maksatlı yeni DNA tanı teknolojileri geliştirilmesi uzun zamandır ilgiyle karşılanmaktadır (Ramsay, 1998; Drummond vd., 2003; Alivisatos, 2004; Patolsky ve Lieber, 2005; Choi ve Choi, 2012). DNA analizinde yer eden belli başlı teknikler; bir mikroskop veya tarayıcı kullanarak DNA sarmalının eşleşmesini optik yoldan okuyan mikroarray sistemleri (Ramsay, 1998; Taton vd., 2000), DNA'nın metal yüzeye bağlandığında kırılma indeksi değişimini kaydeden plazmonik sistemler (McDonnell, 2001; Choi ve Choi, 2012) ve DNA'nın elektrokimyasal reaksiyon ürünlerini amperometrik olarak tespit eden sistemlerdir (Palecek ve Jelen, 2002; Wang, 2002; Drummond, 2003; Ronkainen vd., 2010; Turner, 2013; Bandodkar ve Wang, 2014). Bir başka önemli nükleik asit algılama teknolojisi de nanomekanik cantilever rezonatörlere dayalı teknolojisidir (Li vd., 2008). Bu teknikler doğrudan DNA'nın kendinden sinyal üretmeye değil, etiketlendiği boyayı, nükleik asitlerin veya konjuge edildiği moleküllerin reaksiyon ürününü veya titreştirdiği mekanik sistemin meydana getirdiği tepki sinyalini ölçmeye dayalıdır. DNA'yı doğrudan kendi ürettiği sinyal üzerinden tespit edebilen bir teknoloji gen analizlerinde önemli bir yer edinecektir. DNA'nın öz iletkenliğini kullanarak bu molekülden geçen elektrik yükünü akım-gerilim (I-V) ölçümleriyle tespit etmek elektriksel yoldan doğrudan DNA'dan sinyal almak demektir. Bu projede DNA'nın nanogap elektrotlarda I-V davranışını gözlemleyerek öz iletkenliği nedeniyle doğrudan kendi sinyali üzerinden tespitini gerçekleştirmek hedeflenmiştir.

Elektronik tanı yöntemleri elektriksel bir ölçüm parametresinin (akım gibi) sinyal olarak kullanımı üzerinedir. Elektriksel sinyal iletken/metalik elektrotlar arasına tutuklanan örnekten akım-gerilim (I-V) ölçümleriyle üretilebilir. Bu temel I-V ölçümleri hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilir, analizde incelenen elemanın (analit) bir direnç olduğu varsayılır. Direnci sensör sinyali olarak kullanan bir sensöre kimyasal direnç (chemiresistor) sensörü denir. Elektrokimyasal sensörler biyotanı uygulamalarında yoğun olarak kullanılır (Steel vd., 1998; Souteyrand vd., 1998; Souteyrand vd., 2000; Tokonami vd., 2008; Cagnin vd., 2009). Elektrot olarak yüksek alan/hacim oranına sahip (Wanekaya vd., 2006) bir boyutlu (1D) nanotel veya nanotüp gibi malzemelerin ölçüm elektrotu olarak kullanılması avantaj sağlayıcıdır. 1D nanomalzemelerin elektronik konfigürasyonu biyosensör platformlarının oluşturulmasına çok uygundur (Balasubramanian, 2010), çünkü böylesi bir malzemenin sahip olduğu elektronların büyük bir yüzdesi malzeme yüzeyindedir. Diğer elektriksel tespit yöntemleri, kapasitans veya empedans ölçümlerine dayalıdır. Kapasitif biyosensörlerin çalışma prensibi elektriksel çift-tabaka teorisine dayalıdır (Bard ve Faulkner, 2000; Zhou vd.,2005; Wang, 2006; Palecek,

2002). Bu şekilde çalışan elektriksel sensörler, aktif iletim elemanının yarı-iletken veya iletken olduğu alan-etkili transistör (FET) konfigürasyonuna sahiptirler. Bu tip konfigürasyona sahip aygıtların iyi bir iletkenlik modülasyonunu için belli bir eşik gerilimi sağlanması gereklidir (Patolsky ve Leieber, 2005; Bergveld, 2003: Balasubramanian, 2010; Sessolo vd., 2014).

Nanoteknoloji alanındaki ilerlemeler mekanik ve elektriksel bakımdan kararlı nanoelektrotların üretilmesi bu elektrotlarda moleküllerin öz elektriksel özelliklerinin belirlenmesine katkı sağlamaktadır. Nanoölçekte birbirinden ayrılmış metal kontak elektrotlar ile özellikle π-konjuge organik moleküllerde ve DNA'da yük transport mekanizmaları incelenebilmekte bu elektronik özellikleri belirlenebilmektedir (Amlani vd., 2002; Park et al., 2003; Porath vd., 2005; Klotsa vd., 2005; Tao, 2006;Malyshev, 2007; Bezerril vd., 2009; Joe vd., 2010; Aradhya ve Venkataraman, 2013; Lörtscher, 2013). Nanoteknolojideki ilerlemelere rağmen moleküler elektronik konusunda bir birini iyi tekrar eden elektriksel ölçüm sonuçları almak ve molekül-metal kontağını yani moleküler eklemi kontrol etmekte hala tam başarılı olmuş tekniklerin eksikliği vardır. Bir molekülü elektriksel olarak karakterize etmekte kullanılacak sistemlerin henüz istenen düzeyde başarıya ulaşmamasının altında yatan ana neden, molekül gibi küçük ölçekli bir yapının makroskopik ölçüm cihazlarına elektriksel olarak direk bağlanma noktasında yaşanan sorunlardır. Bu sebeple, bir parçacık veya molekülün elektronik olarak incelenmesi için hem nanometre ölçekte elektrot boşluklarına sahip hem de yarı iletken parametre analizörü veya multimetre gibi makroskopik ölçüm aygıtlara kolay bağlanabilme kabiliyetinde mikroçip sistemlerinin geliştirilmesi çok önemlidir. Bu çalışmada nanoteller arası nanoboşuklara sahip ve ayrıca mikroprob istasyonu ile entegre olabilme imkanı sunan metalik pedler taşıyan bir mikroçip sistemi oluşturulacaktır.

Nanometer mertebesinde boşluklarla ayrılmış elektrotların üretiminin teknolojik bakımdan zorlu bir işlem olduğu uzun zamandır bilinmektedir (Kervennic vd., 2002; Li vd., 2010, Chen vd., 2010; Kizil 2013). Öncelikle, elektrotlar üzerinde nanometre çözünürlükte bir mesafe/aralık hazırlanması gereklidir. Daha sonra bu nanoaralıkın makroskopik bir devreye/kontağa entegrasyonu aşılması gereken bir diğer zorluktur. Nanoaralık elektrot üretimi için çok çeşitli teknikler önerilmiştir. Bu tekniklerden önemli ve çok tercih edilir olanları elektromigrasyon, mekanik ince kırık eklemi yöntemi, elektron ışını litografisi, elektrokimyasal daraltma ve seçici aşındırma olarak sıralanabilir (Kizil, 2013).

DNA nanoelektronik çalışmalarında nanoaralık elektrotlar ve taramalı tünelleme mikroskopisi gibi iki farklı yöntem yoğunlukla kullanılmaktadır. Bu projede kullanılacak elektrot sistemleri nanoaralık elektrotlar üzerine olduğundan incelenecek literatür çok büyük oranda sabit-elektrotlar üzerinde gerçekleşen I-V ölçümleri üzerine olacaktır.

2.1 LİTERATÜR ÖZETİ

DNA kalıtımla ilgili bir biyomolekül olduğundan çok önemli rolü vardır. DNA'da yük aktarımına olan ilgi aslında DNA'nın kendinde oluşan hasarları tamir etmede yük akışını kullandığı tezi ortaya atıldıktan sonra artarak devam etti. DNA'nın elektronik davranışını anlamak için en çok kullanılan tekniklerden önemlilerinden biri DNA'nın iki elektrot kontağı arasında akım-gerilim (I-V) davranışını ölçmeye dayalıdır. DNA'nın iletkenliği hakkında bugüne kadar yapılan çalışmalarda henüz bir fikir birliğine varılmamış, yalıtkan, yarı-iletken ve hatta proksimete endüklenmiş (süper)iletken davranışları kaydedilmiştir. Bunun değişik vargıların başlıca sebeplerinden DNA diziliminde yer alan bazların tipi veya uzunluğu, ölçüm ortamının fizikokimyasal durumu ve kullanılan nanoöçekli elektrotlarının kararlılığı ve özellikle molekül-elektrot kuplajı sayılabilir. Proje çip üstü sabit elektrotlarla yapılan moleküler elektronik işlemler ve ölçümlerle ilgili olduğundan bu aladaki literatür üstünde durulacaktır. Taramalı prob teknikleri olarak bilinen moleküler elektronik karakterizasyon çalışmaları ve sonuçlarına yer verilmeyecek şayet bir karşılaştırma varsa bu teknikle elde edilen sonuçlarla bir karşılaştırma yapılacaktır.

2.1.1 Nanogap Elektrotlar

DNA nanoeletroniği çalışmak için en kritik ihtiyaç nanoaralık elektrot veya taramalı prob mikroskopisi gibi bir veya birkaç moleküle doğrudan elektrik kontağın sağlanacağı sistem veya platformlardır. Birbirinden nanometre düzeyinde ayrılmış mekanik ve elektriksel olarak kararlı elektrotların Şi-yonga üstünde hazırlanması üzerine halen yoğun çalışmalar vardır. Nanogap elektrot üretmek için nanoölçekteki teknolojik zorluklar ve üretim masrafı halen aşılması gerekli bariyerler olarak karşımızda durmaktadır.

Nanometer mertebesinde boşluklarla ayrılmış elektrotların üretiminin zor bir işlem olduğu uzun zamandır bilinmektedir (Kervennic vd., 2002; Li vd., 2010, Chen vd., 2010; Kizil 2013). Öncelikle, nanoçözünürlükte bir boşluk tanımlanması gereklidir. Bu nanoaralıklı makroskopik devreye entegrasyonu baş edilmesi gerekli diğer bir zorluktur. Nanogap elektrot üretimi için çok çeşitli teknikler önerilmiştir. Bu teknikler arasında elektromigrasyon, ince çizgi kırımı, elektron ışını litografisi, elektrokimyasal daraltma ve seçici aşındırma belirtilebilir (Kizil, 2013).

Elektromigrasyon bir top-down yöntemi olarak moleküler boyutta nanoboşluğa sahip elektrotların oluşmasında kullanılmaktadır (Park vd., 1999; Park vd., 2002; Bolotin vd., 2006; Song vd., 2009; Arzubiaga vd., 2013). Elektromigrasyon nanometrik kesit alanına sahip metal tellerden geçen elektrik yükünün yüksek bir yük yoğunluğuna erişilmesi durumunda gözlemlenen metal atomlarının bulundukları yerden göçü/migrasyonu olarak bilinir ve aslında

mikroelektronikte çok bilindik bir problemdir (Strachan vd.,2005). Telden akan elektronların atomlarla sürekli çarpışması sonucu oluşan enerji ve momentum aktarımı atomların göçü için itici kuvveti oluşturur. Yük akışının getirdiği bu etkiler malzemede elektrik yorgunluk nedenli kopmalara yol açar ki bu durum da birbirinden nanometrik ebatlarda ayrılmış elektrotların oluşumunda kullanılabilir. Elektromigrasyon ile oluşacak nanoboşluğun şekli ve ölçüsü kullanılan metal malzemenin tane yapısı ve gren sınırları gibi kontrol edilmesi genellikle güç olan parametrelere bağlıdır. Bu yüzden aralık payı iyi kontrol edilmiş elektrotların bu teknikle üretilmesinde halen iyileştirilmesi gereken veya değişik malzemelerden yararlanmak gereklidir.

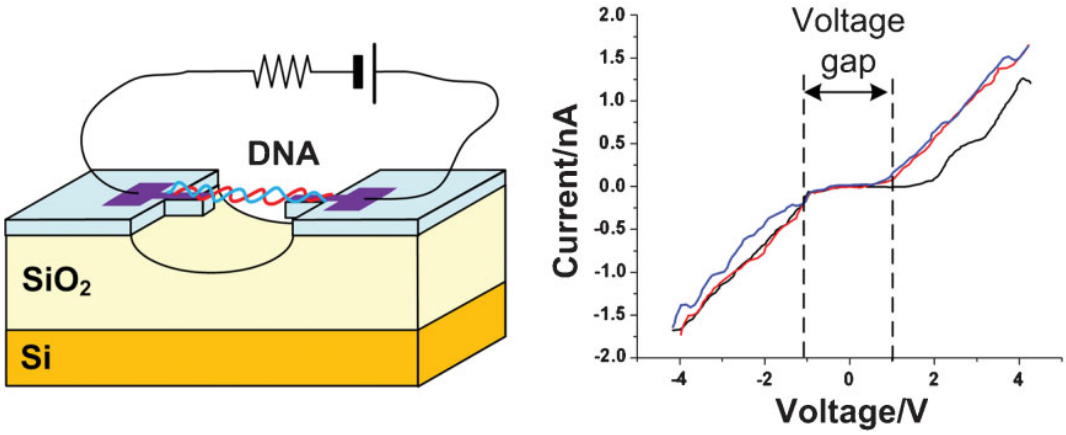
Elektromigrasyon tellerde kritik akım yoğunluğuna (J_c) erişildiğinde rastlanan bir durumdur. Bu kritik yük yoğunluğu da kritil akım (I_c) ve kesit alanı ile ilişkilidir ($J_c=I_c/A$). Aynı zamanda aygıtın toplan direnci (R_{total}) ve I_c kopmanın bağlayacağı kritik voltajı belirler ($V_c=I_cxRtotal$). Toplam direncin içinde telin kendi direnci ve mikroskopik ve makroskopik kontak dirençlerini kapsar. Elektromigrasyon boyunda toplam direnç değişikliğe uğrar (Arzubiaga vd., 2013). Deneysel çalışmalarda kritik akım ve voltaj değerlerinin nanoboşluğun ebat ve biçimini etkilediği gösterilmiştir (Trouwborst vd., 2006; Henderson vd., 2007).

2.1.2 Nanogap Elektrotlarda DNA'nın Elektriksel Karakterizasyonu:

Değişik nanogap/nanoaralık hazırlama teknikleriyle nanoboşluklu elektrotlar başarıyla üretilmiş olsa da, bu elektrot sistemlerinden birçoğu moleküllerin boşluğa yönlenmesine olanak sağlayan sistemler olmadığından biyolojik veya organik molekülün elektriksel tespitinde kesin bir başarıyla kullanılamamıştır (Li vd., 2010; Shinwari vd., 2010). Nanoboşluklar kullanılarak yapılan moleküler elektronik araştırmalarda elektrotlar arası boşluktan daha uzun moleküllerin elektrot üstüne damlatılıp kurutulmasıyla oda sıcaklığında negatif diferansiyel direnç gösteren organik moleküllerin elektron iletim davranışlarını incelenmiştir (Amlani vd, 2002). DNA'nın nanoaralık elektrotlarla incelenmesi Porath vd. (2000) ve daha sonra Hartzel vd. (2003) tarafından elektrotlar üzerinde damlatılıp daha sonra dielektroforez ile boşluğa yönlendirilmesiyle çalışıldı. Nature dergisinde yapılan bu yayına göre Porath vd (2000) dieletroforetik yönlendirme ile yaklaşık 10 nm uzunluğunda 30 nükleik asit baz çifti taşıyan poly (G)-Poly(C) formunda DNA'nın tek molekül formunda elektriksel iletkenliğinin ölçümünü gerçekleştirmiş. Bu öncü araştırmalar ve sonrasında iletilen deneysel çalışmalar DNA'nın iletkenliğinin ölçüm ortamının nem koşulları ve DNA'daki nükleik asit dizilimi, altlık yüzeyi, elektriksel temas durumu, karşı iyonlar ve DNA'nın ikincil yapısına bağlı olduğunu göstermiştir. Şimdiye kadar üretilen sonuçlar bir netlik getiremediğinden DNA'nın elektriksel davranımı halen tartışmalı durumdadır.

Atomik kuvvet veya taramalı elektron mikroskopisinde kullanılan uçlara bağlanmış DNA'nın metal yüzeye teması durumunda incelenene akım-gerilim davranışlarını (Watanabe, 2001; Xu

vd., 2004) kapsam dışı tutarsak, DNA'nın nanogap elektrot kullanarak ilk elektriksel özelliklerinin incelemesi Porath vd. (2000) tarafından gerçekleştirilmiş ve Nature dergisinde yayınlanmıştır. Şekil 2.1'de Porath vd.,'nin kullandığı çip ve elektrot sistemi ve akım-gerilim ölçüm sonuçları verilmiştir. Bu çalışmada 10.4 nm uzunluğunda çift-sarmal DNA dielektroforez ile 8 nm'lik nanogap üzerine yönlendirilmiştir. Kullanılan DNA'da metal ile kimyasal etkileşebilen tiyol (SH) veya amin (NH_2) açık uç gurubu bulunmadığından molekülün elektrota bağlanması zayıf kuvvetli olarak nitelendirilebilecek fiziksel adsorpsiyon yoluyla gerçekleşmiştir.

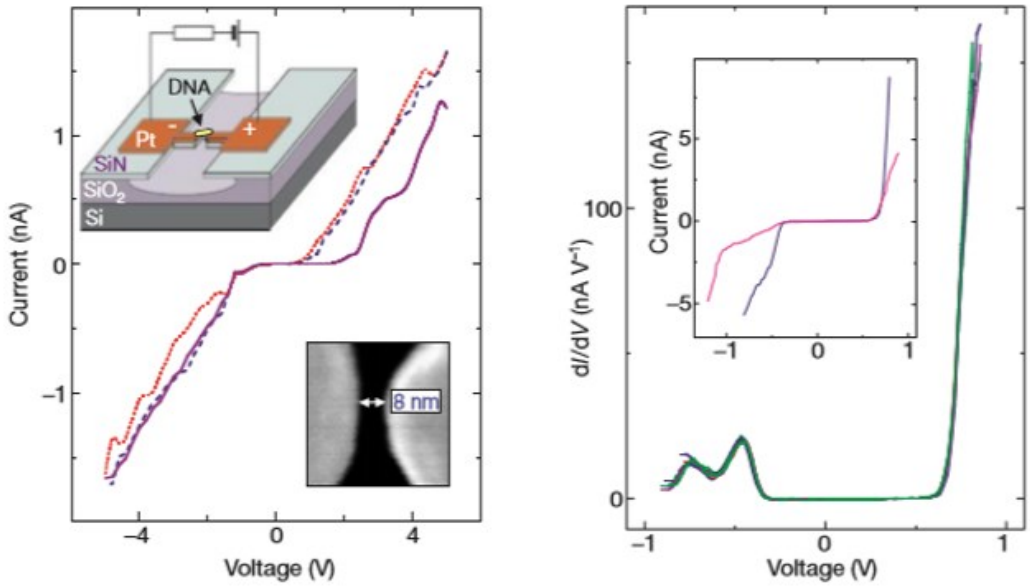


Şekil 2.1 Nanoboşlukta DNA'nın elektriksel karakterizasyonu için yapılan ilk çalışmada kullanılan 8 nm mesafeyle birbirinden ayrık nanogap elektrot sistemi ve gerçekleştirilen akım-gerilim ölçümleri (Porath vd., 2000)

Bu 8 nm ayrık platin nanogap elektrotla 10.4 nm'lik DNA'nın elektriksel davranışı oda koşulunda (%50 nem) ve vakumda 100 K sıcaklıkta yapılan I-V ölçümleriyle karakterize edilmeye çalışıldı. Oda sıcaklığında yapılan ölçümlerde bu çift-sarmal PolyG-PolyC DNA'nın benzer akım gerilim davranışı sergilediği ve bir voltaj bariyerinde düşük iletkenlik halinden yüksek iletkenliğe geçtiği gösterildi. Bu sabit elektrotlarla yapılan I-V ölçümleri iyi tekrarlanabildiğinden elektriksel olarak kararlı bulundu. Dikkat edilmesi gereken bir husus da DNA'nın bant aralıklı tipte elektronik özellik "band gap like behavior" sergilediği ve bazı elektrotlara yüklenen DNA'da gerilim aralığının "voltage gap" değiştiği gösterildi. Bunun nedeni olarak biz elektrot ile DNA kuplajının düzensiz olması veya başka bir deyişle adsorpsiyon yoluyla metale bağlanmanın DNA'nın farklı noktalarında gerçekleşiyor olmasını ileri sürüyoruz.

Şekil 2.2'de bu araştırmanın vakum altından ve 100 K gibi kriyojenik koşulda gerçekleştirilen I-V ölçümleri gösterilmiştir. Ölçüm sonuçları kullanılan DNA'nın geniş band aralıklı yarıiletken "large bandgap semiconductive" davranışlı olduğunu teyit etti. Bu arada bu molekülün yüksek iletkenlik haline geçişi negatif biasta daha düşük voltajda gerçekleştiği rahatlıkla

görüldüğünden yük akışının “hole-transport” yani deşik taşınımı ile gerçekleştiği ve p-tipi yarıiletken davranışı olduğunu değerlendiriyoruz. İlerleyen yıllarda gate-voltaj etkiyle DNA I-V davranışı çalışmasında Yoo vd (2001) çift-sarmal PolyG-PolyC DNA’nın p-tipi yarıiletken buna karşın PolyA-PolyT çift-sarmal DNA’nın n-tipi yarıiletken özellikli olduğunu gösterdi. Dekker ve ekibinin Delft Üniversitesinde gerçekleştirdiği bu öncü çalışmaya dönersek (Porath vd., 2000), 100 K ve vakum altında yapılan iyi tekrarlanabilir 6 değişik I-V ölçümlerinden diferansiyel kontüktansı numerik olarak belirledi ve bu bant aralığının yaklaşık 0.8 eV olduğunu gösterdi. Yine de bazı ölçümlerde (pembe renkli eğri) I-V eğrisinde ani değişikliklerin de olduğu kaydedildi. Bu pembe ile verilen I-V eğrisi tekrarlanabilir bulunduğundan bunun uygulanan voltaja göre veya molekülden geçen akıma bağlı olarak DNA’da moleküler konfigürasyonun modülasyonu bağlı olacağı fikri ortaya atıldı. Bunun yorumunu yapacak olursak, p-tipi yarıiletkende HOMO bandı yeni bir seviyesinden deşiklerin akış sergilediğini söyleyebiliriz.



Şekil 2.2 8 nm’lik nanoboşlukta DNA’nın hapsedilmesi ve kriojenik koşulda vakum altında gerçekleştirilen akım-gerilim ölçümleri (Porath vd., 2000)

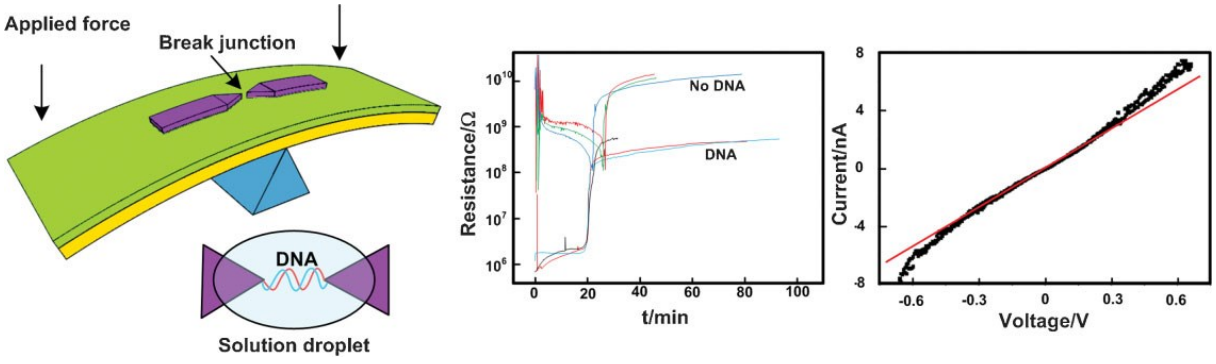
Porath vd. (2000) elde ettiği I-V ölçüm sonuçlarıyla DNA’da yük transportu için en olası mekanizmanın molekülde lokalize elektronik haller arasında sıralı-sekme “sequential hopping” olacağını öngördü. Moleküllerde elektron transportu için en çok kabul görmüş elektron tünelleme etkisinin kendi sistemleri için geçerli olmadığını ileri sürdü. Bir olası mekanizmanın da moleküler band iletimi yoluyla olabileceğidir. Bu durumda molekül boyunca delokalize olmuş elektronların bulunduğu ve guanin (G) ve sitozin (C) bazları arasında elektronik

etkileşimlerle yük akışının gerçekleştiği düşünülür. DNA'da elektron transportunu açıklamakta kullanılan mekanizmaların listesi Kassagne vd (2104) den esinlenerek Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. DNA'da elektron transportunu açıklamakta kullanılan iletim mekanizmaları (Kassagne vd., 2014)

Yük Taşıma Mekanizmaları		Yalıtkan	Yarı-İletken	İletken
Hopping	Değişken Aralık Hopping		Berlin ve Ratner, 2007	Yu ve Song, 2011
	Termal Hopping		Bixon ve Jortner, 2001 Giese vd., 2001	
	Polaron Hopping		Ly vd., 1999	
	Deşik Hopping		Eley ve Spivey, 1962	
	Multi-step Hopping		Jortner vd., 1988	
	Direk-Step Deşik Hopping		Giese vd., 2001 Gue ve Xiong, 2008 Abdalla 2011 Kassegne vd., 2009	Kasumov vd., 2001
Tünelleme	Sürekli Orbital		Ly vd., 1999	
	Direk-Step Tünelleme		Giese vd., 2001	
	Elektron Tünelleme	Holmlin vd., 1997 Zikic vd., 2006 Nogues vd., 22006 Lagerquist vd., 2007	Eley ve Spivey, 1962 Murphy vd., 1994 Murphy vd., 1993 Hennig 2002	Boon ve Barton, 2002 Delaney ve Barton, 2003
	Fonon-Asiste Tünelleme		Pipinys ve Kiveris,2008	
	Pi-Orbital Çakışımı	Holmlin vd., 1997	Murphy vd., 1993 Giese vd., 2001	Murphy vd., 1993 Boon ve Barton, 2002 Delaney ve Barton, 2003

Nanogap elektrotlara DNA'nın bir başka elektriksel karakterizasyonu çalışması Kang vd. (2008) tarafından gerçekleştirilmiştir. Mekanik olarak kontrollü kırılmış elektrotlarda oluşan nanoboşluk kullanılarak gerçekleştirilen bu deneyde DNA'nın çözelti içinde elektriksel davranışı incelenmiştir. Düşük biasda (1 volt altinda gerilim sürümü) gerçekleştirilen I-V ölçümlerinde DNA'nın elektriksel özelliklerinin ortam koşullara göre değiştiği göstermiştir (Şekil 2.3).

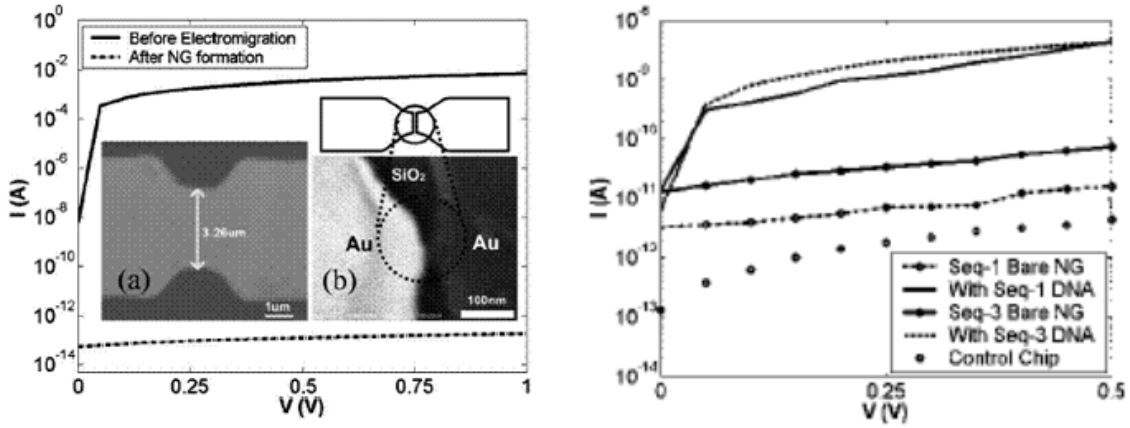


Şekil 2.3. Kang vd.,(2008) tarafından oluşturulan mekanik olarak kontrollü kırılmış elektrot sistemlerinde DNA'nın sıvı ortamda elektriksel tespiti çalışması ve bazı sonuçları.

Kang vd., (2008) tarafından yapılan bu çalışmada boşluk mesafesi çok iyi ayarlanabildiğinden ve tiyol (SH) içeren DNA molekületeri kullanıldığından metal ile molekül arasında iyi elektriksel kontak sağlanmış ve lineere yakın formda I-V sonuçları elde edilmiştir. Şekil 3.2 de ortada verilen direncin zamana göre değişim grafiğinden görüleceği gibi DNA'nın zaman içinde iletkenliği/direcinin değiştirdiği gözlemlenmiştir. Örneğin 20 dk sonrasında oluşan ani fırlamanın DNA'nın konformasyon yapısındaki değişiklikten olabileceği "yeni bir moleküler band tarafından" fikri sunulmuştur. DNA'nın akım iletim özelliklerinin ne kadar karmaşık olduğu bu çalışmada açıkça ortaya çıkmıştır. Bu yüzden DNA'nın elektriksel özellikleri çalışılırken ortamın şartları ve elektriksel temas gibi koşullar iyi belirlenmelidir.

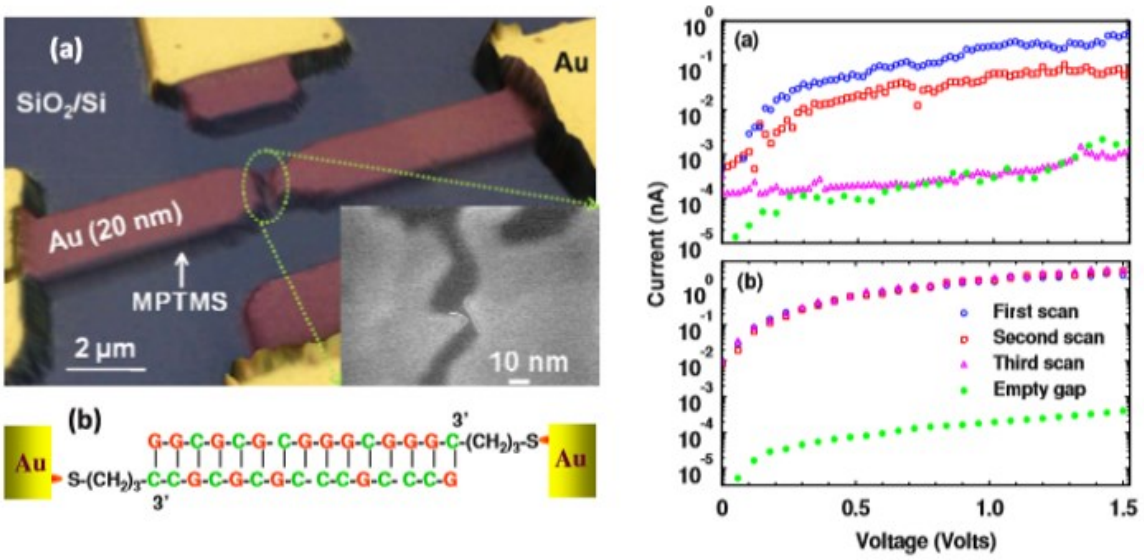
DNA'nın elektromigrasyon yolu ile nanoaralık oluşturulmuş elektrotlar üzerinde elektriksel karakterizasyon çalışmalarında Purdue üniversitesinden Bashir (artık Illinois Üniversitesi Urbana-Champagne'de çalışmaktadır) ve Janes guruplarının çalışmaları önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmalar DNA'nın iletkenliği ve yük taşıma mekanizmalarının anlaşılması maksatlı gerçekleştirilmiştir.

Bashir gurubu (İqbal vd., 2005) 5' ucuna tiyol eklenmiş ve 6 karbon uzunluğunda $(CH_2)6$ linker/bağlayıcı ile (nükleik asit ile S-H arasına yerleştirilen 6 karbon 12 hidrojenli molekül) ayrılmış GC yüzdesi birbirinden farklı 18mer (üzerinde 18 baz çifti bulunan DNA dizini) uzunluğunda ikisi kendi kendine eşlenik (örneğin, SH-(6 karbon linker)CGT GCA CGT ACG TGC ACG) 3 ayrı DNA'nın hibridleşme ve denatürasyon durumlarında akım-gerilim özelliklerini elektromigrasyon ile oluşturulan nanoboşluk elektrotlar kullanarak çalıştı. Kontrol deneyleri için tiyol ucu içermeyen DNA dizinleri kullanıldı. Bu çalışma da benzer birçok çalışma gibi DNA dizininde bulunan GC yüzdesine göre elektrik yükü iletim bağıntısını araştırıldı.-1 ile +1 V aralığında yapılan gerilim taramasında (sweep) aygıtların yaklaşık 15%'sinde DNA eklenmesi kaynaklı elektrik akım iletimine rastlanmıştır. Ölçülen I-V eğrisi 0 ile 0.5 V aralığı sonuçlarına göre tiyol bağlanmış DNA'nın nanoboşluk üzerine yerleştirildiğinde akım değeri kontrol veya tiyol ucu içermeyen DNA'ya mukayese edildiğinde 3 kat artış göstermiştir (Şekil 2.4). Bu i-v davranışı (nA seviyesinde bir akım değeri) aslında lineer ve kısmen doygunluk şeklinde iki ayrı rejimde karakter sergilese de bu durum tartışılmamış/yorumlanmamıştır. Elektriksel karakterizasyonu yapılan bu DNA'lar daha sonra 400K'e kadar kontrollü bir biçimde ısıtılıp erimeleri (çift sarmal yapının tek sarmala dönüşümü) sağlanmış ve bu durumda akım iletimindeki değişim incelenmiştir. Kuru haldeki DNA'nın ısıtılması ile baz çiftleri arasında erime kaynaklı akım geçişinde bir değişim saptandı. Bu etki tüm aygıtlarda gözlemlenmedi ancak ısı artışı sırasında yapılan voltaj taramasında elektrotların yarısında molekülden geçen akımda değişim olduğu rapor edildi. Bu çelişkili durum voltaj uygulamasının charging etkisi nedeni ile DNA'yı denatürasyondan (erimeden) koruduğuna yönelik bir varsayım ortaya atılsa da bunun iyi bir ispatı yapılmadı.



Şekil 2.4. Elektromigrasyon yolu ile 5nm mesafeli nanoaralık elektrot üretimin (sol) ve Nanoaralıkta iki ayrı tek sarmal DNA'nın (seq1 ve seq3) kontrol (tiyol ile metala tutturulmamış) ve tiyol ile metale bağlanmış durumlarda i-v davranışı (Iqbal vd., 2005).

Janes ekibi, tek ve çift sarmal DNA moleküler eklem/jonksiyonlarının kararlı ve tekrarlanabilir elektriksel ölçümleri üzerine yaptığı çalışmada (Mahapatro vd., 2009) elektromigrasyon ile oluşturulmuş 5 nm'lik bir nanoaralık elektrot sistemi kullandı. Bu aralığı kapatmaya yeterli uzunlukta 15 baz çiftli içeren 3 karbon linker ile ayrılmış ve 3' ucu tiyol gurubu barındıran tek sarmal DNA dizini (G:C ihtivası yüksek) kullandı. 0 ile +1.5 volt arasındaki gerilimde taranan bu tek sarmal bu DNA yapısından kuru halde ve oda koşullarında nanoamper mertebesinde akım iletiminin gerçekleştiği gösterildi (Şekil 2.5). DNA'da zamana bağlı oluşan oksidasyon kaynaklı kimyasal değişikliklerin DNA'nın iletkenliğinde düşüşe neden olduğu gösterildi. Aslında bu akım düşüklüğünün bir sebebinin de Au-S arasındaki bağda oluşabilecek degradasyon olabileceği tartışıldı. Oksidasyonun önüne geçmek için sistemin azot atmosferi altında tutulmasının kararlı I-V ölçümleri almak için yeterli olabileceğini gösterdi. Çift sarmal yapılı DNA için ise DNA zincirinin bir polikatyon ile stabilize edilmesinin faydalı olabileceği ancak ölçülecek akım değerlerinin polikatyonunun konsantrasyonuna bağlı olduğu hem bu çalışma hem de başka bir çalışmada (Mahapatro vd., 2007) gösterildi. Bu değerli çalışmalardan çıkarılacak ders DNA iletkenliğinin ortam koşullarında etkilendiği bu yüzden hızlı I-V ölçümleri yapılması gerekliliği, DNA'nın nem gibi dış etkilerin yanı sıra oksidasyondan da etkilendiği ve zincir üzerindeki yüklerin bir polikatyon ile stabilize edilmesinin yararlı olabileceğidir.



Şekil 2.5. elektromigrasyon ile oluşturulan 5 nm kırık üstünde 15 baz çiftli çift-sarmal DNA köprüsü ve bu moleküler köprünün ortam koşulunda (a) ve azot atmosferinde (b) I-V ölçüm verileri (Mahapatro vd., 2009).

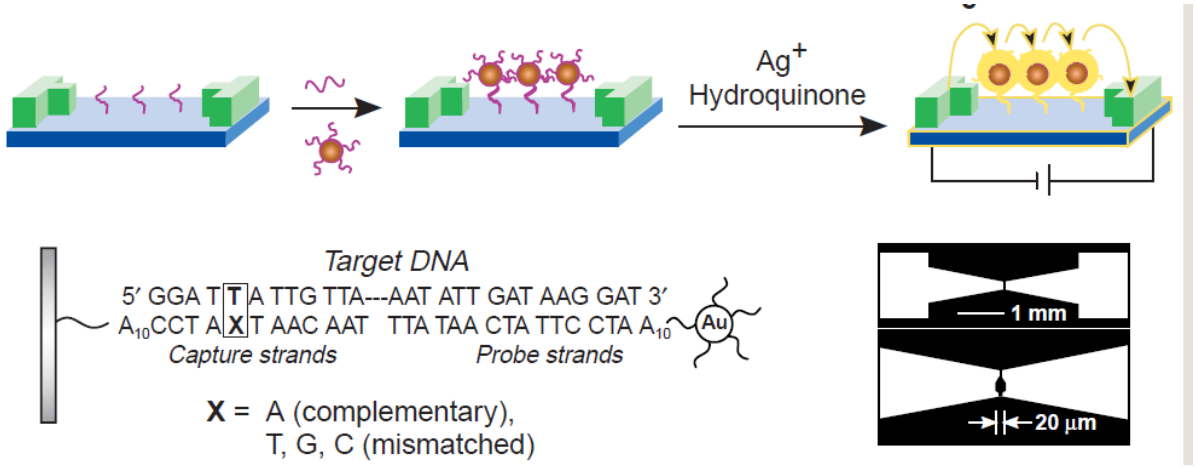
Bu çalışmada sadece guanin ve sitozin içeren 15 baz çiftli çift-sarmal DNA sabit elektrotlar arasına tiyol gurupları yardımıyla Au-S formunda kovalent yoldan bağlandığında ortam koşullarında ve azot atmosferinde I-V ölçümleri gerçekleştirildi. Bu çalışmada Bashir gurubu çalışmasında olduğu gibi düşük verevde lineer bir I-V davranışı kaydedildi. Şekil 2.5'de yeşil eğri ile elektrot boş iken leakage I-V ölçümlerini göstermektedir, mavi ve kırmızı eğri ilk birkaç I-V ölçüm sonuçları ve pembe ile son ölçüm gösterilmiştir. Buna göre elektrotlarla kimyasal bağ kurarak bağlanmış DNA'nın ilk ölçümlerde tekrarlanabilir I-V davranışı sergilediği ancak zamanla oksidasyona bağlı olarak akımın neredeyse leakage seviyesine düştüğü gösterilmiştir. Şayet oksijen ölçüm ortamından uzaklaştırılırsa I-V ölçümlerinin kararlı olacağı gösterildi.

Zincir uzunluğu 40 baz çifti (veya 40-mer olarak da kullanılabilir) aşmayan DNA dizinlerinin elektrik iletebildiği kabul edilmekle birlikte hangi mekanizmalar ile gerçekleştiği henüz tam olarak anlaşılmamıştır (Enders vd., 2004). Bir nükleotidde en yüksek doldurulmuş moleküler orbital (the highest occupied molecular orbital, HOMO) ve en düşük doldurulmuş moleküler orbital (the lowest occupied molecular orbital, LUMO) baz üzerinde olduğu için, DNA'da elektron transferinin büyük oranda baz çiftlerince gerçekleştiği kabul edilir. Guanin (G) ve sitozin (C) arasındaki band boşluğu adenin (A) ve timin (T) arasında olana göre daha küçük olduğundan, baz çiftlerinden G-C yük iletiminden başlıca sorumlu tutulur.

DNA iletkenliği hakkında en mühim nosyonlardan biri de “hopping” yani sekme tipi elektron/hole(delik) transporttur. Bu durumda nükleobazlar çevresinde yoğunlaşan geçici elektronlar ve delikler elektrik iletiminden sorumludur. Bir başka iletim mekanizması ise “superexchange” diye adlandırılan ve büyük oranda nükleobazların moleküler yapısından kaynaklanan rezonans olmayan (Kondo etkisi görülmeyen i-v davranışı verir) elektron veya delik iletimidir. Bu iletime yol açan etmen ise birbirine komşu moleküler birimler arasındaki elektronik bağlaşması (coupling) olayıdır. HOMO aracılığı ile gerçekleşen hole transferi nükleobazların oksidasyon potansiyeline bağlıdır ve en düşük potansiyel Guanin için olup sıralama G<A<C=T (standart hidrojen elektrod referansa göre sırasıyla 1.4, 1.8 ve 2.0V dur) şeklindedir (Seidel vd., 1996; Scannel vd., 1997).

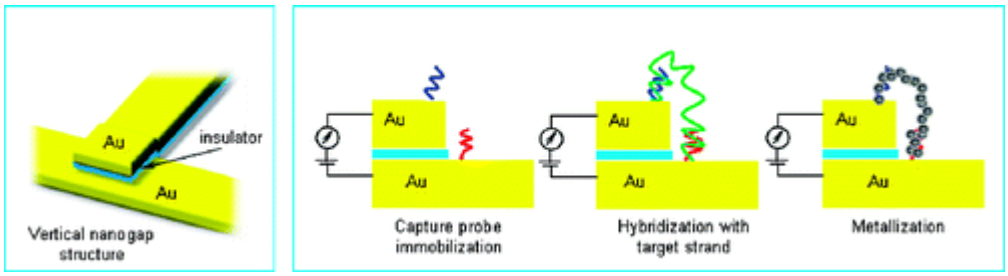
Elektriksel tespit mekanizmasını kendinde barındıran mikrofabrikasyon teknolojilerini kullanarak düşük maliyetli, elde tutulacak kadar küçük moleküler diyagnostik aygıtları üretmek mümkündür. Böylece, kısa zamanda ölçüm gerçekleştirme, düşük örnek hacimleri kullanma, çoklu ölçüm yapabilme ve yüksek hassasiyet gibi özellikleri olan elektriksel sistemler geliştirilebilir (Zhou, 2005). Bu amaç doğrultusunda, DNA’nın elektriksel tespiti için ilk çalışmayı Mirkin grubu gerçekleştirmiştir (Park vd., 2002). Bu çalışmada, aralarında 20 nm boşluk olan elektrotlar arasına önce tek sarmal DNA yerleştirilmiş ve ortama hedef DNA ve bir nanoparçacık üzerinde immobilize olmuş prob DNA eklenmiştir (Şekil 2.6). Hedef DNA’nın bir yarısı prob DNA’ya eşlenik diğer yarısı elektrotlar arasındaki DNA’ya eşlenik olduğu için hibritleşme reaksiyonu sonucu çift sarmal yapılı DNA’lar oluşmuş ve elektrotların arasında altın nanoparçacıklar birikmiştir. Elektrot boşluğu tam olarak kapanamadığı için elektriksel olarak ölçümler yapılamamıştır. Elektriksel ölçümleri gerçekleştirmek amacıyla çip yüzeyine sinyal yükseltici olarak görev yapacak Ag+ hidrokinon eklenerek elektrotların arasında gümüş biriktirilmiş ve böylece elektriksel ölçümler gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemin başarısı, elektrotlar üzerinde gümüş birikimine bağlı olup fazla miktarda kullanımı altın nanoparçacık içermeyen bölgede de gerçekleşebilir. Şüphesiz ki, bu durum, istemeden yanlış sonuçların alınmasına yol açar. Bunun yanında, bu sensörün performansının DNA’nın sergilediği afiniteden çok gümüş

çökelmesine dayalı olduğu söylenebilir.



Şekil 2.6. DNA'nın akım-gerilim ölçümleri ile tespitine dayalı bir elektriksel yaklaşım (Park vd., 2002). Üst soldan-sağa: elektrot arası boşluğa tutuklayıcı (capture) DNA dizilimi yerleştirilmesi, tutuklayıcı ve prob DNA dizilimine yarı-yarı eşlenik hedef (target) DNA ve bir altın nanoparçaçığa bağlanmış prob DNA arasındaki etkileşimler, elektriksel karekterizasyon için elektrot arasında gümüş birikimi. Aşagı soldan-sağa:kullanılan DNA dizilimleri ve elektrot dizaynı.

Nanoaralıkta bir başka DNA tespiti çalışmasında çip üzerinde az sayıda (4) dikey nanoboşluk elektrot içeren bir nanoaygıt kullanılmış ve yine DNA'dan doğrudan I-V ölçümleri için gümüş çöktürülmesi gerekmiştir (Roy vd., 2009). Şekil 2.6 de verilen şekile göre DNA önce alt ve üst elektrotlara ayrı ayrı tutturulmuş ve tespiti yapılacak hedef DNA (yeşil renk) ile hidridleşmesi gerçekleştirilmiştir (hidridleşme işleminin 45 dk tuttuğu rapor edilmiştir). Bu çalışmada da yine Science dergisinde olduğu gibi DNA'dan direk elektriksel ölçümler alınamamış ve metalleştirilmesi gerekmiştir. Bu durumda sistemin cevabı aslında gümüş birikimine bağlıdır ve böyle bir sistem DNA'nın elektriksel (öz iletkenlik) özelliklerini belirlemekte kullanılamaz. Bu projede biz DNA'nın metalleştirmeye gerek kalmaksızın I-V ölçümleri ile karakterizasyonu gerçekleştirdik. Bunu sağlamak için bizim çalışmamızda yeşil renkli görünen DNA bir Au nanoparçacık ile diğer DNA dizinlerine bağlanacağı için elektrik kontağı daha üstün şekilde yapılmış bir jonksiyon sağlanmıştır. Bu jonksiyon bize kararlı ve tekrar edilebilir I-V ölçümleri yapmamıza olanak sağladı. Araştırmamızın en can alıcı ve onu benzerlerinden üstün kılan yönü budur.



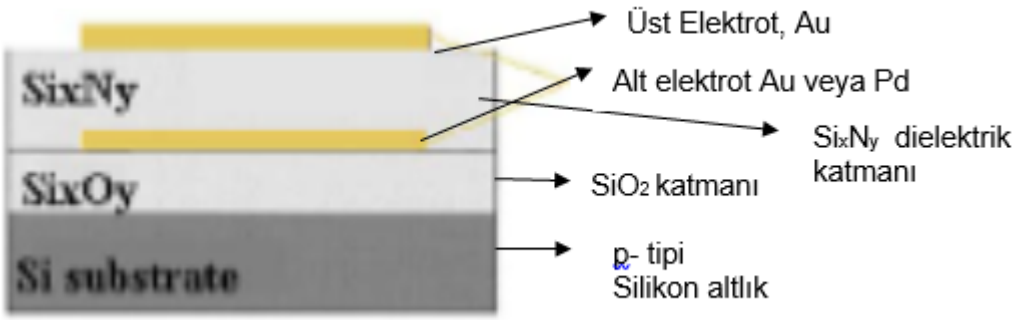
Şekil 2.6. Dikey nanogap elektrotlarda DNA tespiti ve I-V ölçümleri için gümüş ile DNA'yı metalik hale getirme işlemi (Roy vd., 2009)

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER:

Bu araştırmada, üzerinde çoklu (50 adet birbirinden bağımsız) elektrot çifti barındıran bir mikroçip litografik yöntemlerle üretilmiş ve üzerinde nanotel nanogap aygıtların hazırlanmıştır. Nanoteller elektrokimysal yöntemle üretilerek çip üstündeki mikroelektrotlara elektrofluidik yoldan entegre edilmiştir. Nanotellerde elektromigrasyon ile kırık oluşturmuş ve sonra teller tiyol gurubu içeren DNA ile kaplamıştır. Nanokırık bölgesi bir Au nanoparçacık ile kapatılarak DNA moleküler eklemlerin elektronik davranışı DC modda I-V ölçümleriyle incelenmişti.

3.1. Mikroçip Tasarım ve Üretimi:

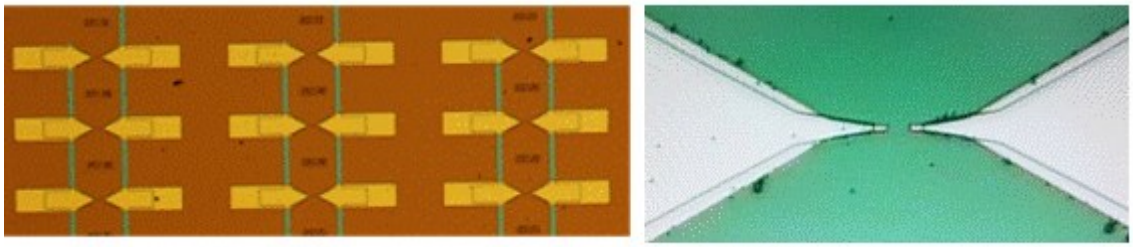
Bu projede üzerinde 50 adet mikroelektrot çiftleri içeren 8 inçlik çipler daha önce kullandıklarımız gibi (Smith vd, 2000; Uran vd., 2009; Kizil, 2013) 3 ayrı katman içerecek şekilde tasarlanıp standart litografi yöntemi ile üretilmiştir. 8" oksit kaplı Si yonga plaka üzerinde Şekil 3.1'de verildiği gibi üç katmandan oluşacak çipler yeni maskeler kullanılarak Penn State Üniversitesi Nanofabrikasyon tesisinde yürütücü ve tesis teknisyenleri tarafından üretildi.



Şekil 3.1. Nanoaralık elektrot üretmek için kullanılan çipin her katmanını ayrıntılı gösteren teknik şeması.

Üzerinde termal yoldan 500 nm SiO_2 oluşturulmuş p-tipi Silikon yonga altaşa klasik optik litografi teknikleri uygulanarak önce kimyasal buhar biriktirme tekniği ile ilk (alt) metal tabakası

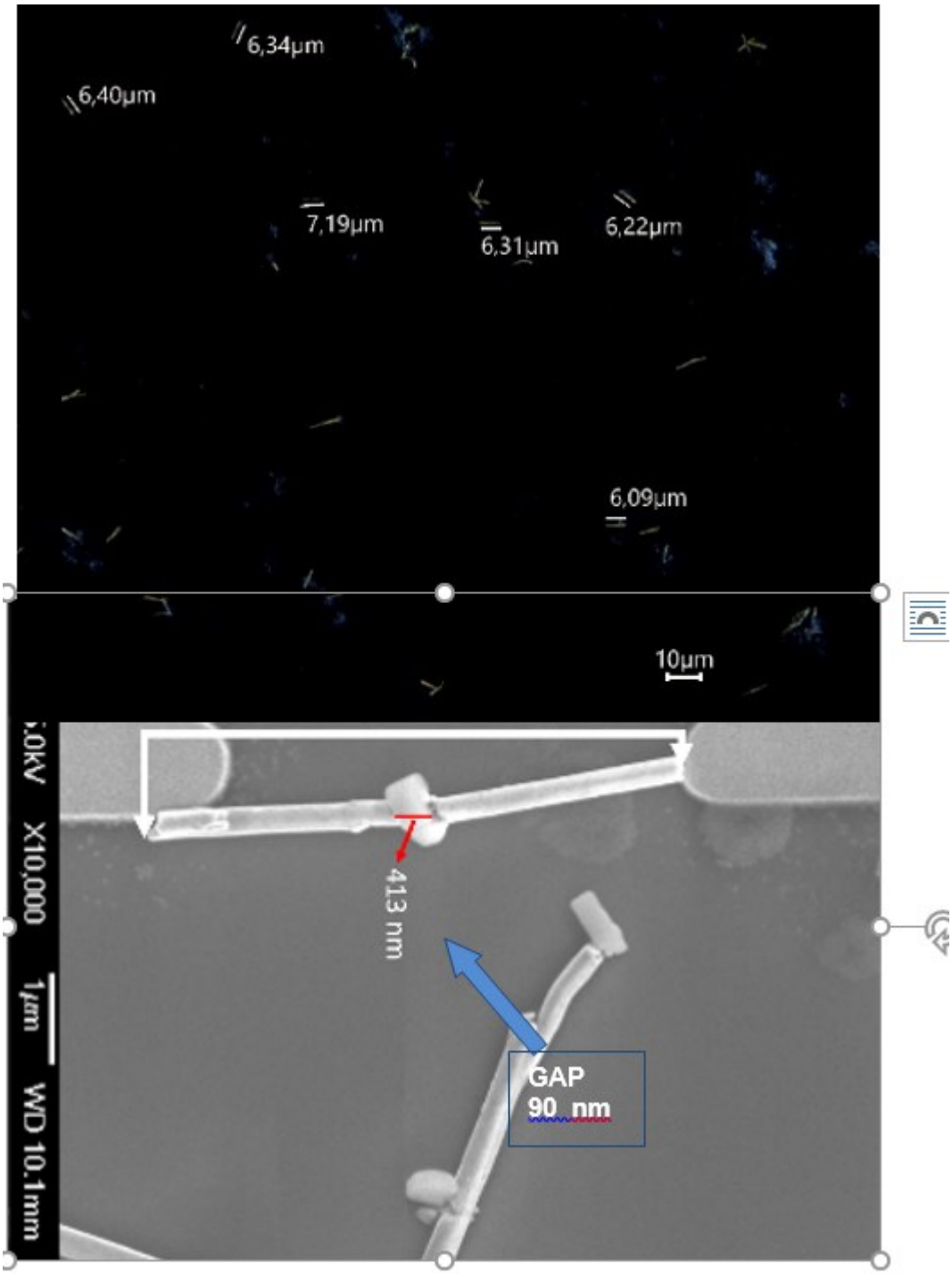
oluşturuldu. Bu alt tabaka çipteki interdigitide elektrotlara direk AC gerilimi uygulamak için tasarlandı. Bu tabaka üzerine SixNy dielektrik tabası PECVD kullanılarak 200 °C de kaplama yapıldı. Vakum altında bu sıcaklığa Au elektrotların nasıl dayanacağı, deformasyona sebep olacağı kestirilemediğinden altın (Au) elektrotların yanı sıra paladyum (Pd) malzemeden elektrotlar da üretildi. PECVD koşullarında hem Pd hem de Au elektrotların bozulmadıkları görüldü. SixNy dielektrik tabakası kapasitif katman olarak 200 ve 250 nm kalınlıklarında kaplandı. Üst elektrotlar Au malzemeden 5x10 dizin formatında her bir die da 50 tane bağımsız elektrot çiftleri olacak şekilde 100 nm kalınlığında (Au katmandandan önce 10 nm Ti yapıştırma katmanı kullanarak) hazırlandı. Üst Au elektrot çiftleri arasındaki boşluklar 5.5 ve 6.0 nm olacak şekilde üretildi. Elektrot çifti dizinlerin 25x ve 1000x görüntüleri Şekil 3.2 de verilmiştir.



Şekil 3.2. Silikon yonga üzerinde üretilen elektrot dizinleri. 5x10 formatında hazırlanan elektrot çifti dizinlerinden 3x3 lük kısmın 2.5X optik büyütme görüntüsü (sol) ve tek bir elektrot çiftinin 100x optik büyütmede görüntüsü (sağ)

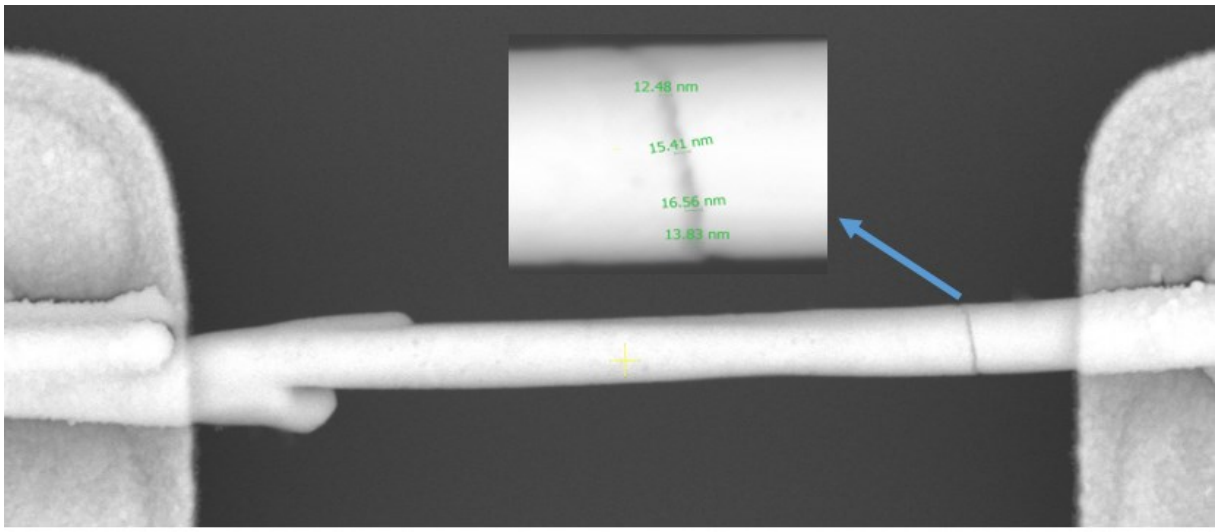
3.2. Elektrokimyasal Birikim Tekniği ile Nanotel Üretilmesi

Au-Ag-Au formunda nanoteler galvanostatik koşulda (1.5 mA) uygun Au ve Ag elektrobirikim banyoları kullanılarak alümina membranlar üzerindeki boşluklarda üretildi. Yaklaşık 6.0 ile 8.5 nm uzunluklarında ve 250-320 nm çapında silindirik nanoteller önce Au segmentin üretimi ile başlatıldı. Bu Au segmentin üzerine 60, 45, 30 ve 15 sn'lik birikim sürelerinde Ag segman eklendi. Bu gümüş katman üzerine tekrar yeni bir Au segman biriktirilerek nanoteller alümina membranlar içerisinde üretildi. Nanotelleri membrandan ayırmak için önce membran arkasına kaplanmış metal (Ag) tabaka nitrik asit ile uzaklaştırıldı, nitrik asit Au üzerine etkili olmadığından membran içinde alt ve üst segmanları Au olan nanoteller korunmuş oldu. Alümina membran 3M NaOH çözeltisinde çözündürülerek nanoteller serbest hale getirildi ve oksidasyondan (Ag segmanın) korumak için etanol veya isopropanol çözeltileri içerisine alındı. Hazırlanan naotellerden 60 sn Ag birikimi yapılmış, Au-Ag-Au formlu nanotellerin optik ve elektron mikroskopu görüntüleri Şekil 3.3'de verilmiştir. Şekil 3.3'de üstte karanlık alan optik görüntülemesi yapılan nanoteller ve altta bir nanotelin aşınan gümüş bölgesi (413 nm) gösterilmiştir. 60 sn süren elektrobirikim ile nanotelde yaklaşık 90 nm kalınlığında Ag katman oluşturulabildiği anlaşıldı.



Şekil 3.3. Elektrobirikim yöntemi ile üretilmiş 60 sn birikim süresinde Ag segman içeren 6 □m uzunlugunda 320 nm çapında Au-Ag-Au nanotellerin 50x optik (üst) ve 10000x SEM (alt) görüntüleri.

Ag birikim süresi daha azaltılarak Ag segmanın kalınlığı küçültülmesi ve böylece aralığın tek DNA molekülü sığacak kadar küçültülmesi amaçlandı (Şekil 3.4).



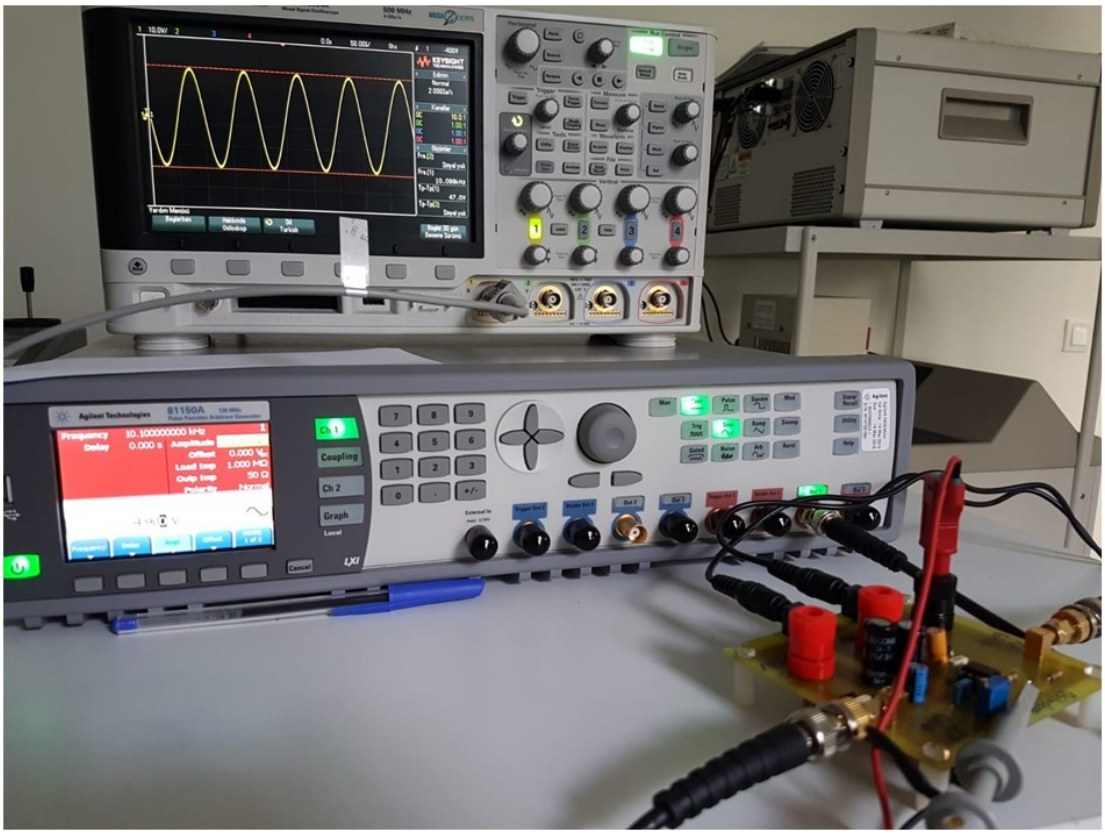
Şekil 3.4. Gümüş birikim süresini düşürerek daha dar aralıklı nanogap elektrotların hazırlanabileceğini gösteren elektron mikroskopi görüntüsü.

3.3. Nanoaralık Nanotel Elektrot "NANOGAP" Üretimi

Ag segman içeren Au-Ag-Au nanotellerin çip üstündeki mikrolektrot çiftleri arasına yerleştirilmesi ve sonra teldeki gümüş kısmın uzaklaştırılması yoluyla nanoteş nanogap elektrotlar hazırlanmıştır. Nanotel dispersiyonu (etanol veya isopropanol içinde dağıtılmış nanoteller) elektrofluidik yaklaşım kullanarak 47 Volt ve 10 kHz AC bias altında elektrotlar arasına yerleştirilmiştir.

Elektrofluidik yönlendirme için kullanılan deney sistemi ve ekipmanlar Şekil 3.5'de gösterilmiştir. Deney düzeneği bir işaretleyici (function generator), bu işaretleyiciden çıkan sinyalde voltaj artırımı için op-amp kullanarak kendi hazırladığımız PCB yazılmış devre ve bir osiloskoptan oluşmaktadır. PCB boarddan çıkış yarı otomatik bir probe istasyonuna verilerek çipin alt elektrotlarına AC bias uygulandı ve bu sırada çip yüzeyine 15 uL nanotel çözeltisi akıtıldı. Alt elektrotlara uygulanan bu elektrik alan orta dielektrik katman ile kapasitif olarak eşleşip üst elektrotlarda bir polarizasyon sağlayarak nanotellerin dipol etkileşimi ile bu elektrotlar arasına yerleştirilmesi başarıldı..

Çip yüzeyindeki elektrot çiftleri arasına mümkün olduğunca tek bir nanotelin yerleştirmek istendi ve nanotelde gümüş segmanı deforme ederek nanoboşluk üretildi. Bazı durumlarda (nanotelin eletrot arasında köprü yapacak uzunlukta olmaması veya elektrofluidik yöntemde yüksek nanotel konsantrasyonun kullanılması) iki telin birlikte köprü yapması veya birden çok telin köprü yapması durumlarıyla karşılaşıldı.



Şekil 3.5. Nanotellerin elektrofluidik yoldan elektrotlar arasına yönlendirmesinde kullanılan düzenek:Üstte bir osiloskop, altında işaretleyici ve işaretleyiciden çıkan sinüsoidal işaretin şiddetini artırmak için kendi imal ettiğimiz 10x voltaj artırıcı.

Nanotellerde nanoboşluk oluşturmak için yeni yönlendirilmiş nanotelleri potasyum ferrisiyanür ($K_3Fe(CN)_6$) ve %10'luk nitrik asit kullanarak aşındırma tekniği kullanılmıştır. Ancak bu teknikte nanoteller yüzey gerilimi ve kuruma etkisi gibi fiziksel etmenlerden dolayı elektrotlar arasında kaymaktadır ve elektrot ile nanotel arasındaki elektriksel kontak kaybolmaktadır. Bu etki çalışmalarımızı olumsuz etkilediğinden bu problemi yenmek için nanoteller elektrotlar arasında yönlendirildikten sonra sağ ve sol elektrotlar ile nanotelin kontak noktalarında kenetlenmesi yapılacaktır. Bunun için bir maske 2017 yazında hazırlanmıştır ve nanofabrikasyon merkezinde bu maske kullanarak yönlenen nanotellerin elektrot ile kontak yaptığı noktada 1x1 mikrometre'lik bir Au birikimi ile kelepçeleme yapılmıştır. Nanotellerin elektrot üzerine kelepçelenmesi ile hem kimyasal aşındırma kolaylıkla çalışılabilecek hem de tel ile elektrot arasındaki ohmik kontaktan emin olunacaktır.

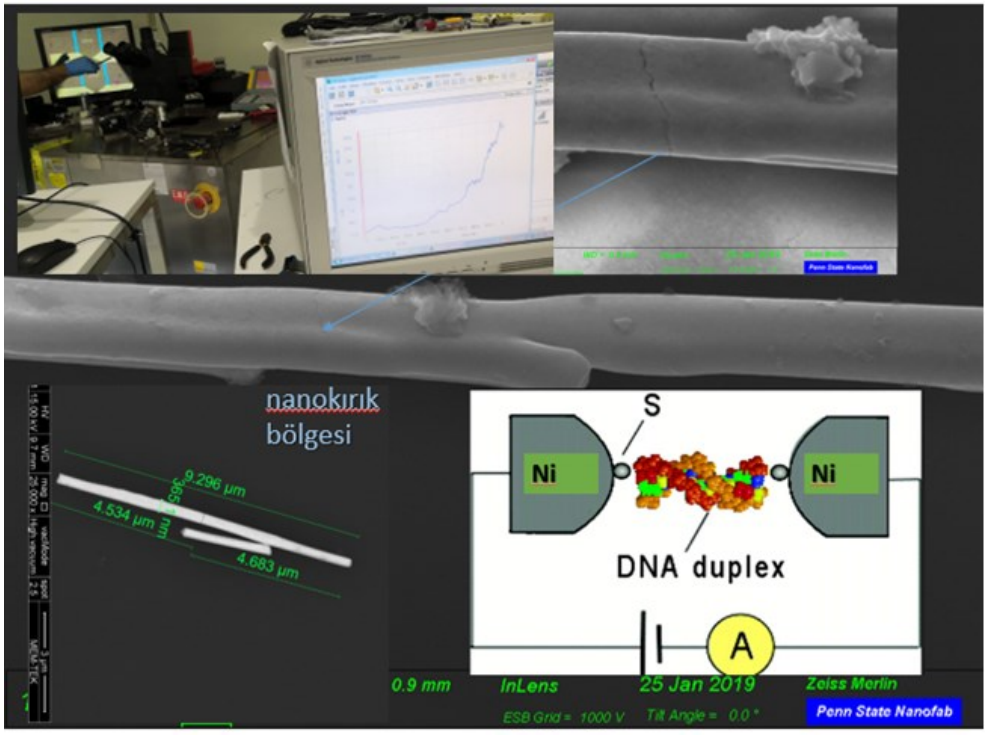
Nanoboşluk oluşturmak için bu projede ilk kez Ag segman içeren tellerin elektromigrasyon ile kopartılması çalışılmıştır. Bu amaçla hem Joule ısınması hem de fazla yük akını kontrol eden ve DC bias artırımını 12.9 kohm'da (kuvantum of kondaktans, yani iletkenliğin tünelleme ile olacağı rejim ki bu rejime ulaşıldığında tel kopmuş elektronlar sadece tünelleme ile geçiyor demektir) sonlandıran kendi özel bir MATLAB yazılımını hazırlayarak nanotellere uyguladık. Daha önce öngörüldüğü gibi elektromigrasyon etkisi ile telin en zayıf olduğu Au-Ag arayüzünde

olduğu göstertildi. Şayet elektromigrasyon kontrolsüz gerçekleşirse (ısınma, fazla yük akışı ve tünelleme rejimi kontrolu olmaksızın doğrudan DC voltaj yükseltilmesi) nanotelin gelişigüzel kırıldığı ve oluşan boşluğun mikrometre mertebesinde olduğu gözlendi. Kontrolsüz elektromigrasyon deneylerimizde nanotellerin çoğunun 8 mikroamperde başlayıp en çok 35-38 mA akım değerlerinde koptuğu gözlendi.

3.4. Nanogap Elektrotlarda DNA'nın Elektriksel Davranışının İncelenmesi

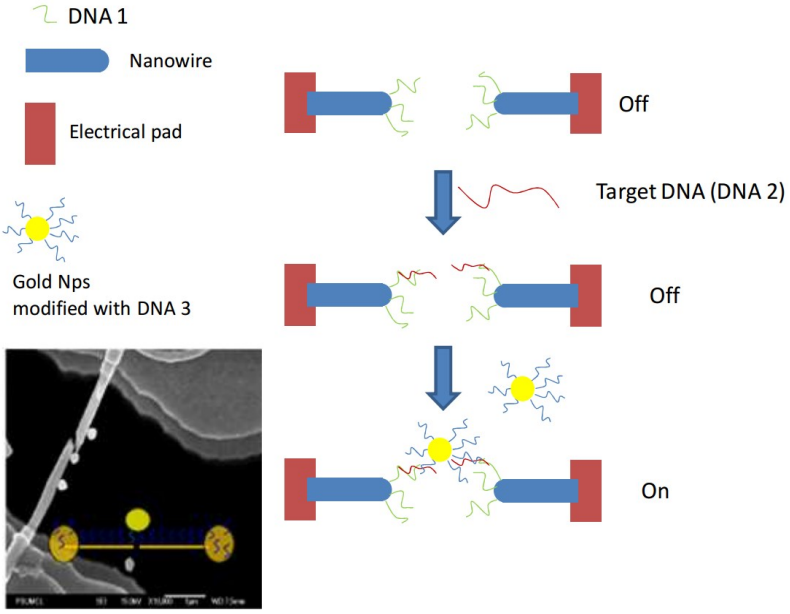
Bu çalışmada uçlarında tiyol (SH) gurupları bulunan tek sarmal ve çift sarmal formunda sadece G ve C nükleik asit bazlarından oluşan 15 ve 12 baz çiftli DNA oligomerleri kullanılmıştır.

Nanoaralık elektrotlar kullanarak hem tek sarmal hem çift sarmal yapılı DNA'ların elektriksel karakterizasyonu daha başarıyla gösterildiği (Iqbal vd., 2005; Mahapatro vd.,2009) gibi metal-tiyol kovalent bağı ile elektrota tutturulmuş DNA'larla yapıldı. Bu çalışma bir yenilik olarak elektriksel ölçümler üzeri DNA kaplı nanotellerin 250 nm'lik Au nanoparçacık ile kapatılması (sandviçlenmesi) yaklaşımıyla gerçekleştirildi. Bu yaklaşım bize kararlı ve iyi tekrarlanabilen I-V ölçümleri almamızı sağladı. Nanotel üzerindeki boşluk DNA tarafından kapatılabilecek kadar dar olduğunda ise Au nanoparçacık kullanmadan DNA boşluk arasına Şekil 3.6'da gösterildiği kıstırılarak bu eklemin I-V davranışı incelendi. Şekil 3.6'da yaklaşık 2-3 nm ayrık nanotel elektrot arasına tiyollenmiş çift-sarmal DNA'nın DC modunda düşük verevde (±1.0 V) Agilent BA1500 A yarıiletken analizörü ile incelenmesi gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Nanotel üstündeki kırık, bu kırığın DNA ile doldurulması ve prob istasyonunda bir parametre analizörü ile gerçekleştirilen I-V ölçüm sonucu

DNA kendi kendini eşleyebilme kabiliyetinde bir moleküldür. DNA eşlenmesi veya hibritleşmesini elektriksel yoldan karakterize etmek için Şekil 3.7 de verilen yaklaşım kullanılmıştır (Park vd., 2002). Bu yaklaşımda nanotel üzerinde yakalama/capture DNA'sı (CCT AAT AAC AAT) kullanılacak ve hedef DNA (GGA TTA TTG TTA AAT ATT GAT AAG GAT) ile etkileşmesi çip üzerinde hibritleşmesi sağlanacaktır. Devreyi kapatmak için Au nanoparçacık üzerine bağlanmış prob DNA'nın (ATC CTT CTA TAA TTA) kullanarak devre tamamlanacak ve I-V ölçümleri yapılmaya çalışılmıştır.



Şekil 3.7. Nanoboşluk elektrotlarda DNA'nın elektriksel tespitini gerçekleştirmeye yönelik önerilen yaklaşım. Üstten-altta: Nanotellerin çipe entegrasyonu ve telin aşındırılması ile nanoboşluk elektrot hazırlanışı. Birbirine eşlenik üç ayrı DNA dizilimlerinin birbirleriyle eşleşerek nanoboşluğun DNA ve Altın nanoparçacık ile kapatılması ve bu etkileşimin akım-gerilim ölçümleri ile tespiti. SEM görüntüsü elektronik ölçümlerin alınacağı nanoparçacık ile kapatılmış bir nanoboşluk elektrotu göstermektedir (Kizil, 2013).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

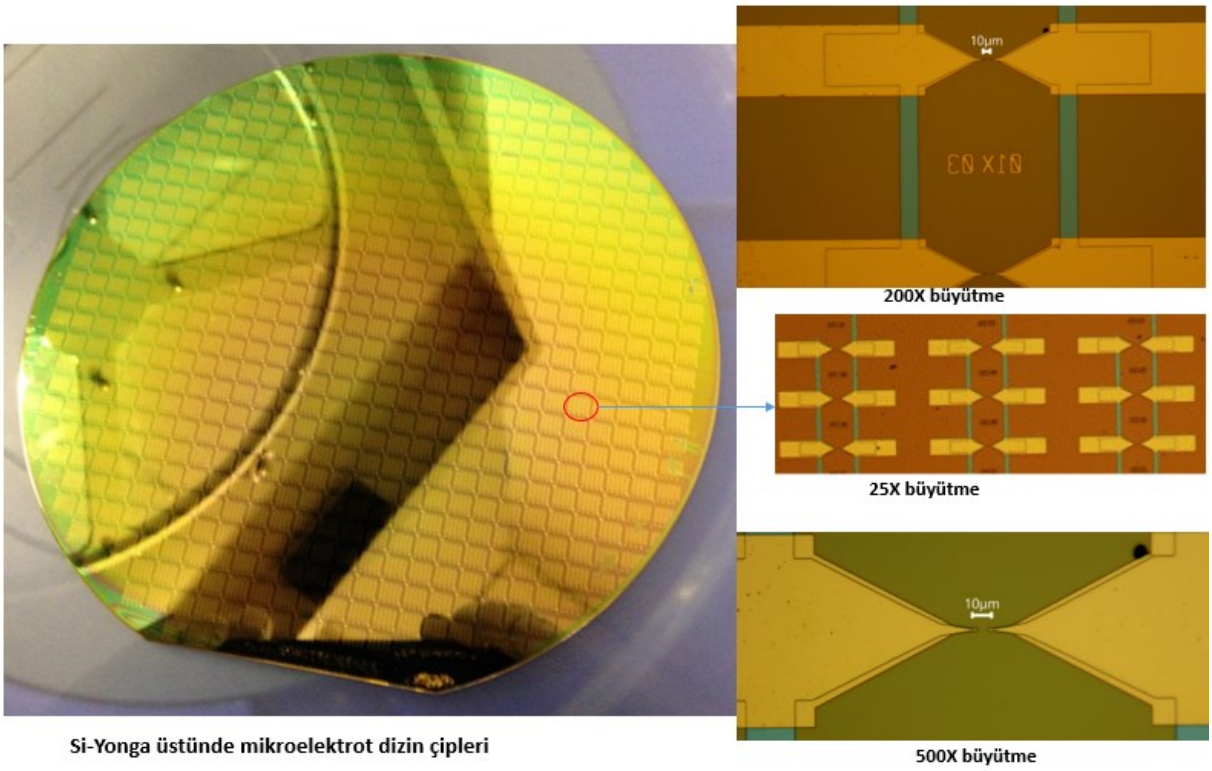
Projenin temel amacı nanölçekte elektriksel ölçümler yapmakta kullanılacak çip üstü nanotel nanogap elektrotları üretmek ve bunları DNA'nın doğrudan öz iletkenliğini ölçmekte kullanmaktır. Bu projede DNA'nın elektronik davranışını doğrudan akım-gerilim ölçümleri yoluyla belirlemekte kullanılacak yeni bir yaklaşım geliştirdik ve uçları tiyol modifiye edilmiş 12 baz çifti uzunluğunda Poly(GC)-Poly(GC) DNA üzerinde uyguladık. Au nanotel üzerindeki nanoboşluk oluşturup DNA'yı buraya yerleştirerek DNA'nın doğrudan elektriksel karakterizasyonunu gerçekleştirdik. Nanoboşluk aygıt kullanarak oda koşullarında elektron

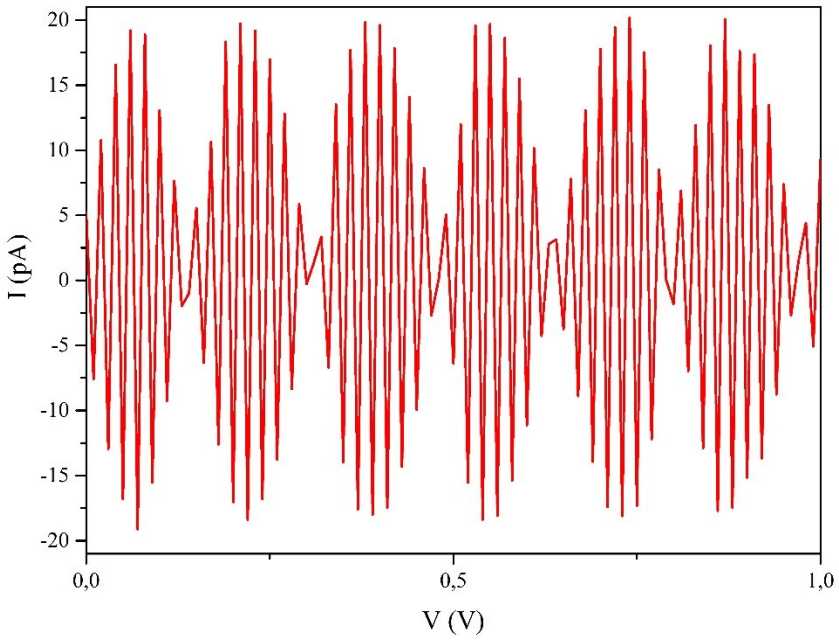
transportu ölçümleri uygulanan potansiyele karşı DNA'dan geçen akımın femtoamper veya en çok pikoamper sızıntı akımı (gürültü) limitinde okunması yoluyla gerçekleştirildi.

1962 yılında başlayan DNA'da yük transferi deneyleri (Eley ve Spiver, 1962) çift sarmal DNA dupleksde π-istifleme "stacking" türü moleküler yapılanması tek-boyutta (zincir uzunluğu boyunca) etkin yük transferine yol açtığını gösterdi. Tek-sarmal DNA iplikçikte bu yapılanma yer almadığından yük transferi dupleks yapıya göre daha zayıftır. Biz deneylerimizde tek-sarmal DNA'da yük iletiminin çift-sarmal DNA'ya göre 2 mertebe daha az olduğunu I-V ölçümleri ile belirledik. Bunun dışında çip üzerinde DNA hibritleşmesinin, tek-sarmaldan çift-sarmala geçişi elektriksel olarak karakterize edildi.

4.1 Çip Üstü Mikroelektrot Çift Dizinleri Karakterizasyonu

Fotolitografik yöntem kullanarak 8' Si-yonga üzerinde 3 katmandan oluşan mikroelektrot çipleri başarıyla üretildi (Şekil 4.1) ve çalışmanın tüm safhalarında kullanıldı. Çipte üst katman birbirine paralel 50 adet bağımsız mikroelektrot çiftlerini barındır. Bu mikroelektrotlar iki ayrı maksatı yerine getirmek için kullanıldı. Bunlardan birincisi Au-Ag-Au formunda parçalı nanoteleri tek-tel köprüsüyle elektrot arası parmak bölgeleri arasına yönlendirmek. İkincisi ise nanotel üzerinde oluşturulacak boşlukta tutuklanacak DNA moleküllerin elektriksel ölçümlerini gerçekleştirmektir. En alt katman birbirine seri bağlı sol ve sağ elektrot dizinleri, rehber çizgisini ve elektrik alan uygulanacak genişçe kare şeklinde köşelerde iki ped içerir. Bu katman çip yüzeyine bir işaretleyici yardımıyla sinüsoidal AC alanı uygulamak için kullanılacaktır. Bu tasarım çip üzerinde elektrik alan çizgilerini sol ve sağ elektrot parmakları arasında maksimize etmeye göre yapılmıştır. Orta katman ise 200 nm kalınlıkta Si_xN_y dielektrik tabakasıdır, alt elektrotta oluşan elektrik alanın kapasitif eşleşme ile üst elektrota taşınmasından sorumludur. Üst elektrotlar nanotellerin üzerine dizileceği kontaklardır. Bu kontaklar 150x300 μm boyutundadır ve bir prob istasyonu yardımıyla elektriksel ölçüm cihazlarına kolaylıkla bağlanabilir.





Şekil 4.1 8" Si-yonga üzerinde üretilmiş çikroelektrot çiftleri dizin çipi ve elektrotların sırası ile 200x, 25x ve 500x büyütme ile görüntüleri (üst) 500x büyütme ile verilen elektrot çiftinin oda koşulunda atmosferik ortamda elektriksel I-V grafiği (alt) .

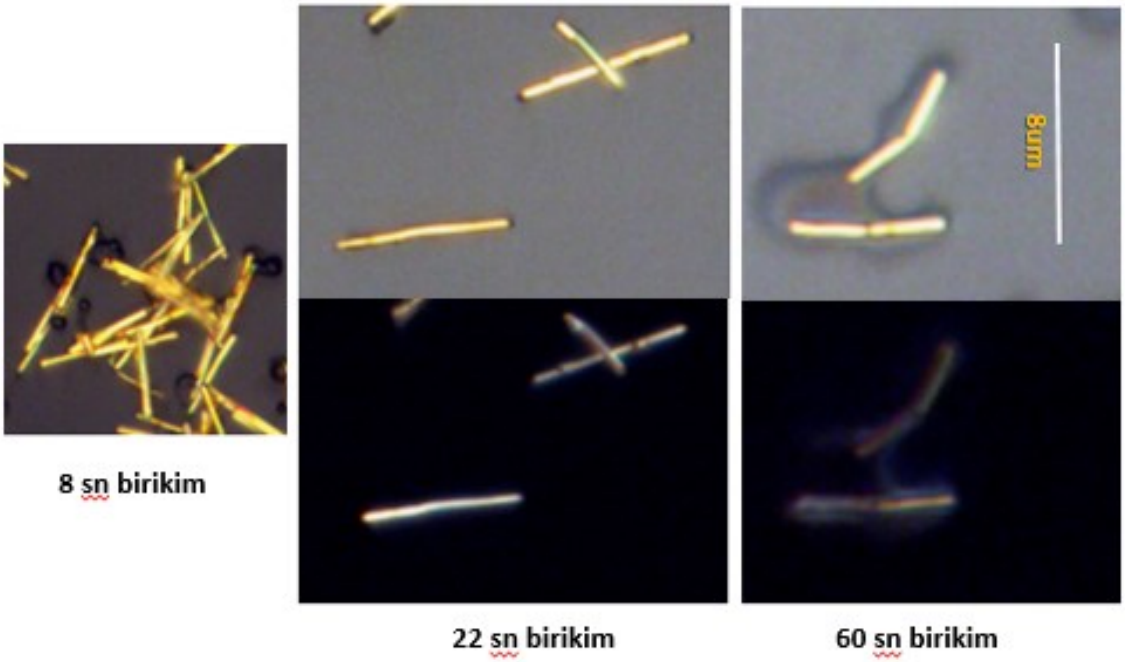
Bu çalışmada kullanılacak mikroelektrotların arası nanotel doldurulmadan yalıtkan özellikli olması gereklidir. Bu yüzden mikroçip elektrotlarının elektriksel karakterizasyonunun yapılması gereklidir. Şekil 4.1'de mikroçip üzerinde rastgele seçilmiş bir elektrot çiftinin arası 6 µm ayrık iken akım-gerilim davranışı sunulmuştur. Şekilde görüldüğü gibi elektrotlar arasında en çok 20

pikoamper (pA) gibi çok düşük akımın sızdığı yani elektrotların arasında herhangi bir ohmik veya yarıiletken kontağı olmadığı anlaşılmıştır. Kullanılan ölçüm cihazı Agilent BA1500A'nın BNC kablo bağlı iken en düşük parazit akım limit değeri olan 20 pA'lik sinyal voltajdan bağımsız olarak kaydedilmiştir. Bu ölçüm sonucuna göre üretilen mikroelektrotların DNA'nın öz iletkenliğini ölçmede kullanılmaya uygun olduğu ortaya çıkmıştır.

4.2. Nanotelin Karakterizasyonu

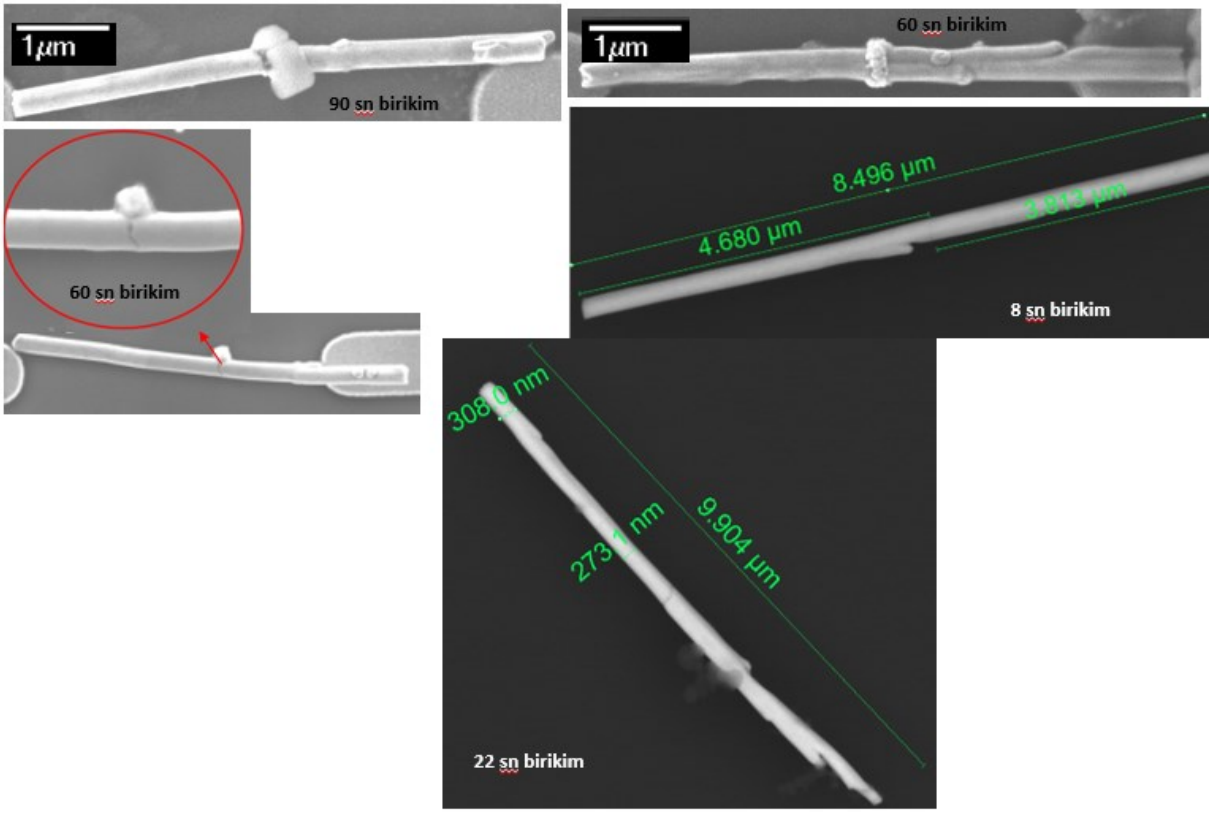
Galvanostatik birikim yoluyla alümina membran gözeneklerinde 250-300 nm çapında ve değişik uzunluklarda Au sonra kısa bir Ag ve en son Au olmak üzere mikrometre mertebesinde değişik uzunluklarda "Au-Ag-Au" formunda çiftemetalik nanoteller üretildi. Nanoteller 6-8 μm boyutlarında uzunlukları nedeniyle 1-boyutlu nanomalzemeler olarak bilinir. Bu teller optik mikroskop altında kolaylıkla görüntülenebilirler ve uzunlukları kabaca tahmin edilebilir. Bu proje için özel üretilen Au-Ag-Au formunda silindirik yapılı nanotellerin uzunluk ve çaplarını iyi bir şekilde belirlemek için Alan etkili elektron mikroskopu (FESEM) kullanıldı.

Şekil 4.2'de bu proje çalışmasında kullanılan bazı Au-Ag-Au nanotllerin optik mikroskopigörüntüleri verilmiştir. Optik mikroskop görüntüleri galvanostatik koşul kullanarak düzenli uzunlukta nanotellerin elektrokimyasal birikim yolu ile üretildiğini göstermektedir. Aydınlık bölge ve karanlık bölge optik mikroskopi tekniklerini kullanarak nanotellerin 100X büyütmeli mercekte (10X okular büyütmesi ile 1000X büyütmede sağlanır) tellerin istenen uzunluklarda olduğu belli olmaktadır. Aydınlık bölge görüntülerinde tellerin orta kısımlarında boğum şeklinde beliren görüntü parçalı yapının varlığına işaret eder. Şekil 4.2'de 60 sn süre ile Ag birikimi yapılmış nanaotelde orta bölgede bir boğum bariz olarak görünmektedir. 22 ve 8 sn sürelerde biriktirilen Ag miktarı difraksiyon limiti nedeni ile optik mikroskopta görüntülenemez. Nanotellerde Ag segman kurban katman olarak görev görerek nanoaralık elektrot üretiminde kullanılacağından dolayı bu kısmın net görüntülenmesi önemlidir bu yüzden nanotellerimizin elektron mikroskopu ile görüntülenmesi yapılmıştır.



Şekil 4.2 Galvanostatik koşulda 60, 22 ve 8 sn sürelerde Ag birikimi yapılmış Au-Ag-Au nanotellerin 100X mercek altında karanlık ve aydınlık bölge görüntüleri.

Nanotellerin orta bölgelerinde bulunan Ag atmosferik oksijenden dolayı oksidasyona uğrayarak aşınır. Bu aşınma Şekil 4.3'de açıkça görülmektedir. Galvanostatik birikimin 90 ve 60 sn olduğu nanotellerde aşınan gümüş belirgin şekildedir. Ancak nanomertebeye inildikçe 22 ve 8 saniye sürede biriken gümüşün kolay aşınmadığı ortaya çıkmıştır. Gümüş havaya maruz kaldığında çabuk oksidasyona uğrayan bir metaldir, ancak nanoboyutta bu oksidasyon gecikmektedir. Bunun nedenini difüzyon olayına bağlıyoruz düşük yüzey alanında aşınmanın yavaşladığı gözleminde bulunuyoruz. Gümüş nanoteller transparan özelliği nedeniyle LEDlerde, dokunmatik ekranlarda ve fotovoltaik cihazlarda çok sık kullanılmaktadır ancak UV ışığına (Fantanas vd., 2018), elektrik akımına (Stahlmecke vd., 2006) ve havaya karşı dirençli olmadığından aşınmadan dolayı stabilizasyon sorunu vardır. Nanoboyutta gümüşün geç bozulduğu SEM karakterizasyonu ile ortaya çıkmıştır.



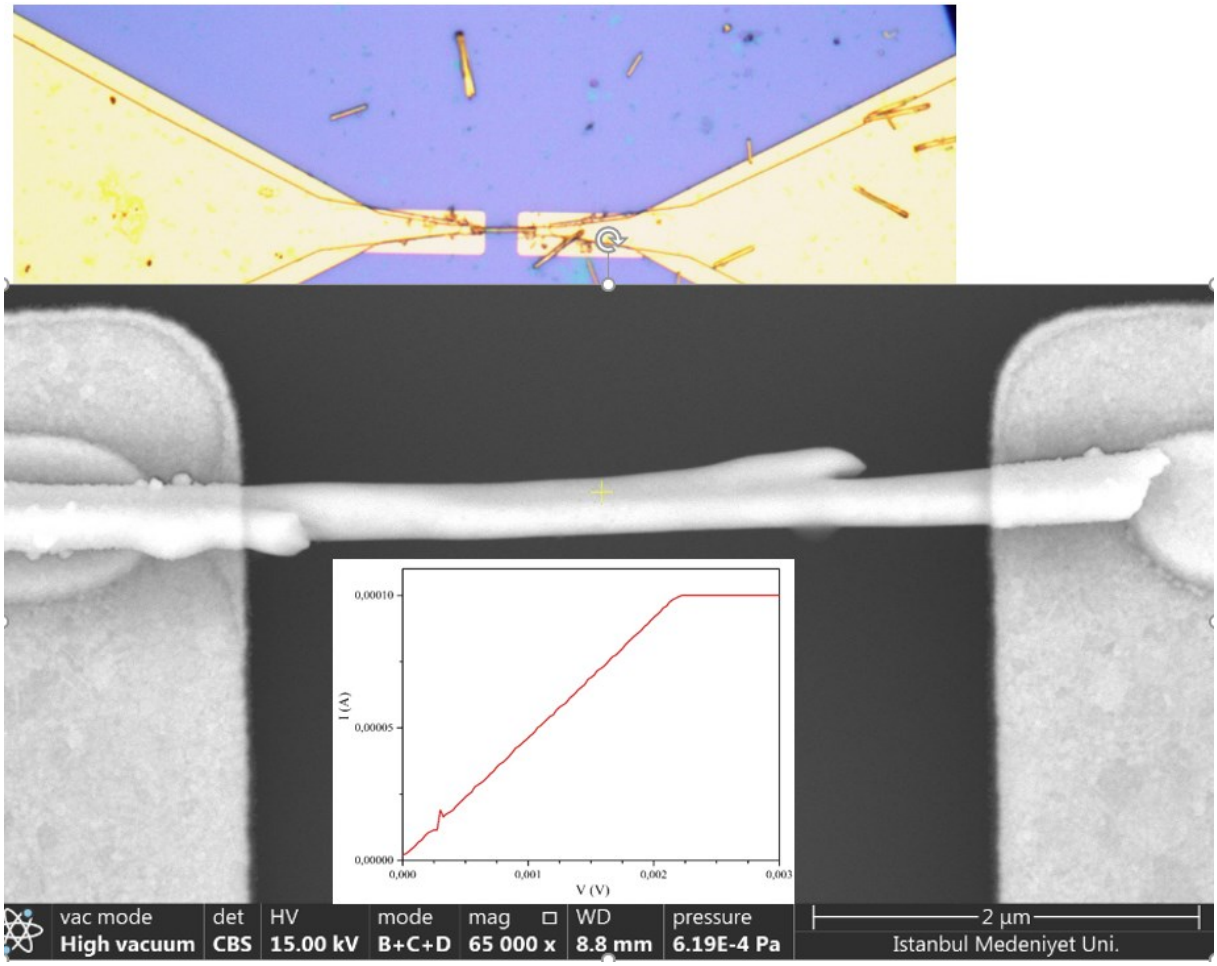
Şekil 4.3 Au-Ag-Au nanotellerin SEM görüntüleri ile uzunluk tespiti ve zamanla aşınan Ag bölge.

Şekil 4.3'de verilen nanoteller incelendiğinde bazı tellerde uzunluğun planlanandan daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bunun nedeni nanotlleri üretmek için kullandığımız alümina membran şablonda gözenek çaplarının çok muntazam olmamasıdır. Gümüş elektrobirikim süresi 22 sn olan tele bakıldığından kalınlık sol uçtan sağa doğru daralmakta, bu daralmanın karşılığından tel boyu uzamaktadır. Buna göre gözenek ne kadar düzgün olursa nanoteller de o kadar muntazam üretilebilmektedir.

4.3. Nanotellerin Mikroçipe Entegrasyonu

Au-Ag-Au nanotellerin çip üstünde mikroelektrot arası boşluğa hizalanması için dielektroforez yöntemi kullanıldı (Smith vd, 2000). Etanol içinde dağıtılan nanotellerden 10 mikroliterlik bir kısım maksimum 48Volt şiddetinde 1 veya 10 kHz frekansta alternatif alan uygulanmış çip üstü mikroelektrot dizinlerin üzerine damlatıldı. Nanoteller elektrik alandan kaynaklanan dielektroforetik kuvvet etkisi nedeni ile mikroelektrot çiftleri arasına yerleşti. Bu yerleşimin nedeni uygulanan alternatif alanda nanotellerin etanola göre daha iyi polarize olması ve maksimum elektrik alan bölgesine doğru yönlenmesidir. Bu işlem Şekil 4.4'de verilen optik ve elektron mikroskopi görüntülerinde gösterildiği gibi nanotellerin mikroelektrot çiftleri arasına tek tel köprü şeklinde hizalanmasını sağladı. Hizalama işlemi tamamlandıktan sonra bazı çiplerde

nanotellerin elektrot üzerine sabitlenmesi için fotolitografi ile ek bir 100 nm kalınlığında Au tabaka ile tutturulmuştur.



Şekil 4.4. Au-Ag-Au formunda nanotollerin dielektroforez yöntemi ile elektrotlar arasına hizalanması ve sonrasında ince bir Au katmanı ile sabitlenmesi. Sabitlenmiş bir nanotelin ohmik I-V davranışı ölçülmüştür.

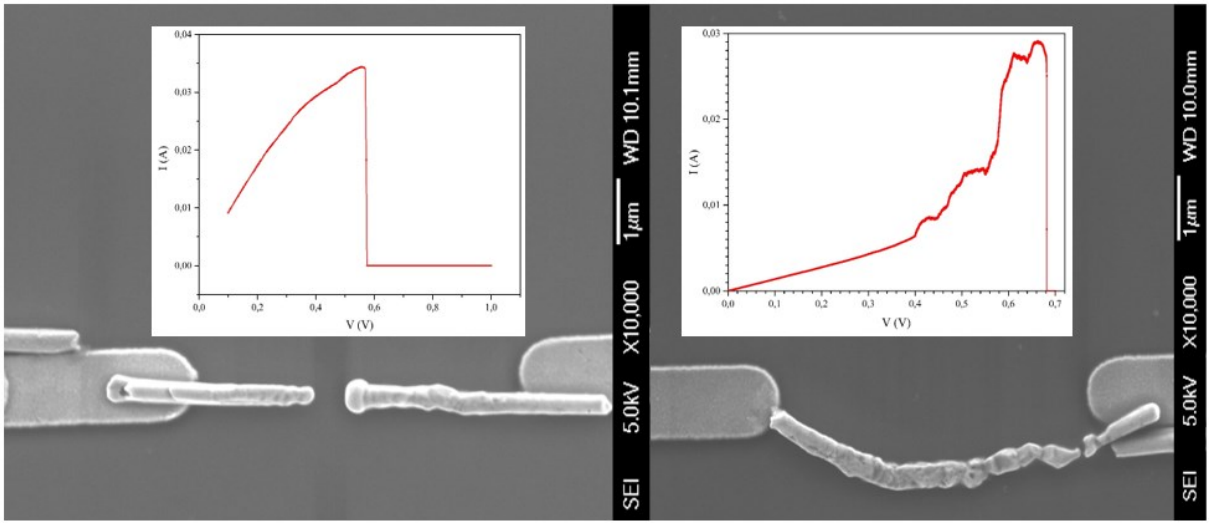
Nanoteller AC alan kullanarak mikroelektrotlar arasına sorunsuz şekilde hizalanmıştır. Bu nanoteller metalik olduğundan ortadaki gümüş bölge aşınmadıkça ohmik davranış sergilemekte ve direnç olarak 15 ile 100 ohm arası değerler elde edilmiştir.

Bundan sonraki aşama bu nanoteli nanoboşluk elektrot olarak kullanmak için gümüş kısım elektromigrasyon “elektrogöç” veya kimyasal aşındırma yoluyla telden uzaklaştırılacaktır.

4.4. Nanotel Nanoaralık Elektrot Üretimi ve Karakterizasyonu

Çip üstü mikroelektrotların arasına tek-tel formunda hizalanmış ve ek bir Au tabaka ile yerine kelepçelemiş (bazıları doğrudan fotolitografi tesisine erişimimiz olmadığından kelepçelenmeden kullanıldı) nanotellerden gümüş kısım uzaklaştırılarak nano mertebede ayrık nanotel elektrotlar başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. Nanotel üzerinde Ag bölge şayet 20

nm'den uzunsa zamanla kendiliğinden aşınmakta veya demir ferrosiyanür ile kolayca çözündürülmektedir. Ancak kısa (2-20 nm arası) Ag bölgeye sahip nanotellerde kimyasal aşındırma iyi çalışmış bu yüzden elektogöç tekniği gerektirmiştir. Elektrogöç için Motto vd. (2012) tarafından kullanılan hem Joule ısınması hem de ani direnç yükselmesi kontrollü algoritma nanotel sistemimize adapte edilmiştir. Nanotellere feedback kontrol uygulayarak onların elektrik akımı kontrolünde kırılmasını sağladık ve bunu 2018 yılında yayınladık (Kizil vd., 2018). Feedback kontrolün gereğini göstermek için önce herhangi bir kontrol uygulamadan nanotelin nasıl kırıldığı Şekil 4.5'de gösterildi.



Şekil 4.5. Direk DC voltaj rampası uygulandığında oluşan elektrogöç ile nanotelin kopması ve kopma olayını sağlayan akım-gerilim ilişkisi.

Nanotele direk DC gerilimi artan şekilde uygulandığında tel bunu belli akım yoğunluğuna kadar taşıyabilmekte ancak bir noktada metal atomları elektronların momentumu yenik düşerek kopmaya başlamaktadır. Au-Ag-Au nanotelin 30 mA akım değerine kadar dayanabildiği Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Şayet voltaj daha ileri sürülürse tel akımı taşıyamamakta ve kopmaktadır. Genelde nanotelin en zayıf yeri Ag eklem kısmı olmasına karşın nanaotelin ince yerlerinden de olmak üzere gelişigüzel kopmalar olmakta ve mikrometre boyutunda bir kopma oluşmaktadır. Şekil 4.5 de görüldüğü gibi bu olay telin şeklini de büyük oranda değiştirmektedir. Bu yüzden elektrogöçün kontrollü yapılması gerekliliği vardır.

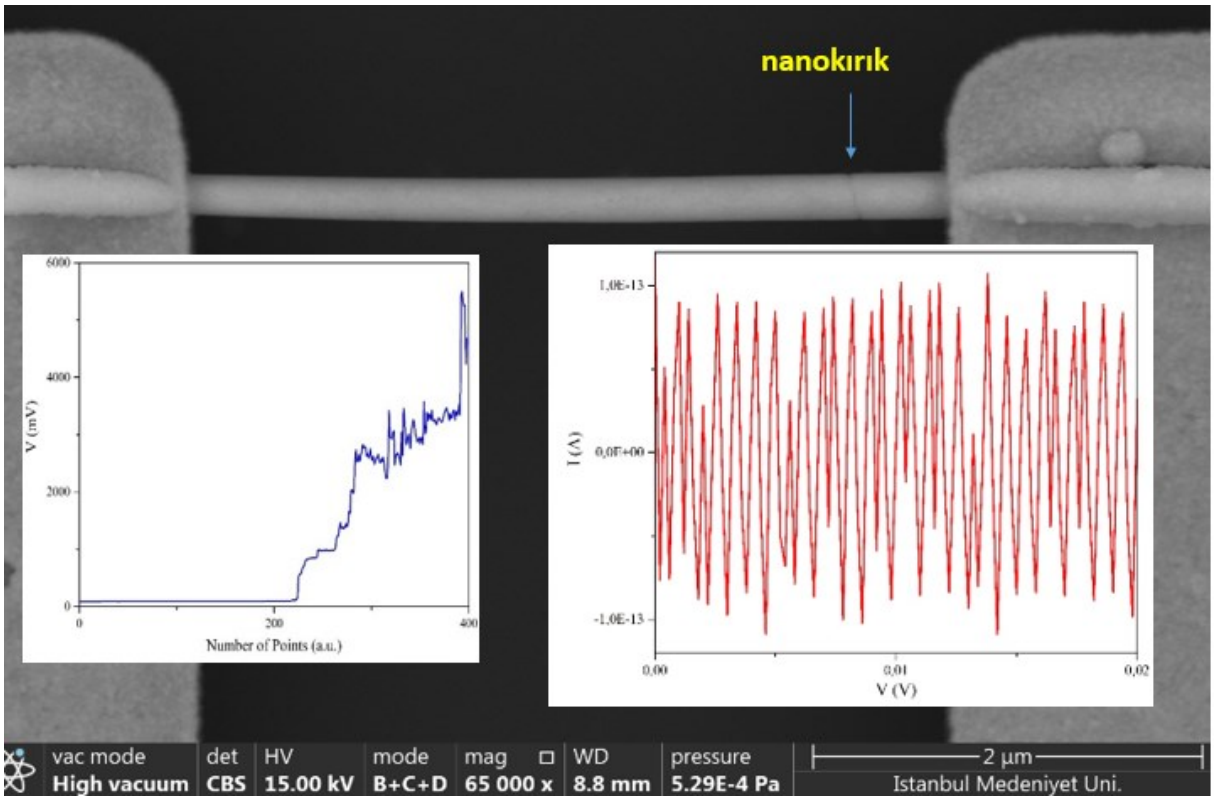
Feedback kontrollü elektromigrasyon içim Motto ve arkadaşlarının kullandığı (Motto et al.,2012) algoritma (Şekil 4.6) MATLAB kullanarak nanaotel sistemimize adapte edildi ve bir elektrometre yardımıyla nanotellere uygulandı. Şekilde görüldüğü gibi yazılım hem aşırı lokal ısınma hem de yüksek gerilimin etkisinden telleri koruyacak şekilde hazırlandı ve telin direnci 12.9 kohm değerine (quantum of conductance) ulaştığında sonlandı. Bu işlem bize 20 nm ve altındaki tüm gümüşün telden kopmasını sağladı. Kontrollü elektromigrasyon ile parçalı

nanotellerin tam gümüş kısmından elektrogöç ile uzaklaştırılarak moleküler elektronik (bu çalışmada DNA nanoelektroniği) çalışılacak kadar küçük nanoboşlukların üretilebileceği gösterilmiş oldu.



Şekil 4.6. Feedback kontrollü elektrogöç uygulamada kullanılan algoritma (Motto vd., 2012).

Feedback kontrollü elektrogöç kısa gümüş (20 nm veya altı) bölgesine sahip nanotellere uygulandığında temiz bir şekilde kopma yaşandı. Şekil 4.7'de feedback kontrollü elektrogöç 8 nm uzunluğunda gümüş katman içeren nanotele uygulandığında oluşan kopma gösterilmiştir. Bu kopyama neden olan DC gerilim sürümü yine şekil içinde gösterilmiştir. Elektrometre ile her 100 ms de bir voltaj artışı yapılarak feedback kontrolünde telde kopmanın 20 sn sonra tetiklendiği ve 40 saniye civarında sonlandığı gösterilmiştir. Oluşan nanoaralık elektrot şekilde görüldüğü gibi TRIAX kablolu manipülatör kullanarak 100 femtoamper gibi düşük parazit akımı ile karakterize edilmiştir. Böylesi düşük akım ölçümü yapabilir nanoaralık elektrota geliştirmek ve hassas ölçüm sistemleri kullanarak DNA'nın öz iletkenliği doğrudan elektriksel ölçümler ile çalışabilir hale gelinmiştir.



Şekil 4.7. Nanotele feedback kontrollü elektrogöç uygulayarak nanokırık (nanoaralık) elde edilmesi, işlem sırasında voltajdaki değişimler ve nanokırık oluştuktan sonra boşluğun yalıtkan “open, açık” I-V davranışı.

4.5. Nanotel Elektrotlarla DNA’nın Öz İletkenliğinin Belirlenmesi

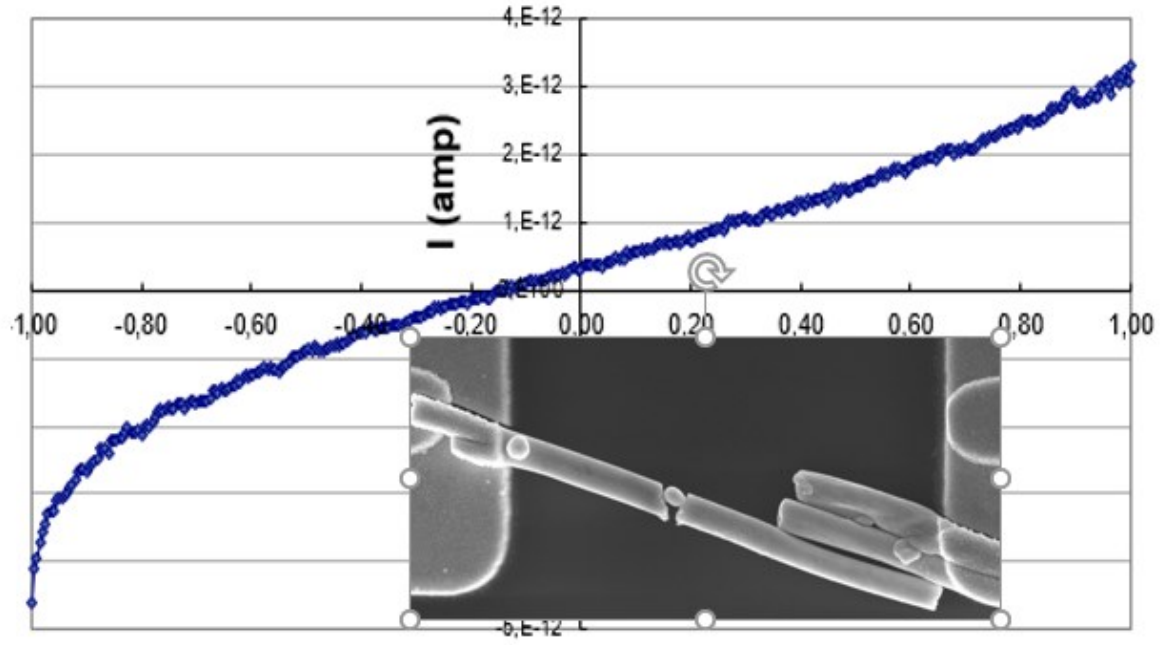
Bu projede tek sarmal (single strand “ss”) ve çift sarmal DNA’nın öz iletkenliğinin doğrudan akım-gerilim deneyleri ile ölçülmesi çalışılmıştır. DNA’nın elektriksel özelliklerini belirlemek için temel ölçüm akım-gerilim ölçümü deneyleridir (Porath vd., 2000; Endres vd., 2004). Bu deneyler şayet DNA da elektron transportu gerçekleşiyorsa bunu ispat için kullanılacak tek yöntemdir. I-V ölçümleri DNA’nın elektron taşınmasına izin veren öz iletkenliği veya direncini bulmak için kullanılan yegâne yöntemdir. Şayet DNA net yük taşınıma izin vermiyor (yalıtkan) sadece üzerinden yük transferi gerçekleşiyorsa bu elektrokimyasal ölçümler veya Barton ekibinin gerçekleştirdiği gibi floresans soğurma deneyleri ile çalışılır. Yük transfer ölçümleri DNA’da net elektron(veya deşik) akışına yol açmadığından doğrudan bir elektriksel ölçüm değildirler. DNA’nın elektriksel davranışını belirlemek için I-V ölçümleri fundamental bir gerekliliktir.

Bu projede DNA’nın elektriksel özelliğini belirlemekte özel bir yöntem geliştirilmiş, DNA’nın nanotel ve Au nanoparçacık arasına sıkıştırılması ile elektriksel kontağı güçlendirilmiş eklemlerde başarılı I-V ölçümleri gerçekleştirilmiştir. DNA’nın melezleşme yani çift sarmal

oluşumu da I-V ölçümleri üzerinden incelenmiş ve ilk kez DNA'nın tek sarmaldan çift sarmala çip üzerinde geçtiği elektriksel olarak gösterilmiştir.

4.5.1. Tek sarmal DNA (ssDNA)'nın Öz İletkenliğinin Doğrudan Ölçülmesi

Tek-sarmal (single stranded, ssDNA) DNA'nın öz iletkenliği nanotel nanoaralık elektrotlar kullanılarak düşük akımda (femtoamper hassasiyette) I-V ölçümleri yapılarak belirlenmeye çalışıldı. Bunun için bir ucu tiyol ihtiva eden sadece G ve C bazlarından oluşan 15 baz çiftli tek sarmal DNA (3'Tiyol(CH2)3GCGCGCGCGCGC5') 10 µM konsantrasyonunda hazırlandı. Bu DNA çözeltisinden 10 µL çip üzerinde 100 nm mesafeyle birbirinden ayrılmış nanotel elektrotların üzerine dökülerek kurutuldu. 15 baz çiftli DNA yaklaşık 5 nm uzunluğundadır ve 100nm'lik bir boşluğu kendi başına dolduramaz. Devreyi tamamlamak için DNA kaplı nanotel üzerine 200 nm çapında altın nanoparçacık (AuNP) dielektroforez ile yönlendirilerek elektrot boşluğu Şekil 4.8'de gösterildiği gibi kapatıldı. Böylece Nanotel/ssDNA/AuNP/ssDNA/Nanotel formunda eklem üzerinde ±1.0 V aralığında akım-gerilim ölçümleri yapıldı. Böylece tek sarmal formunda 12 baz çifti uzunluklu 3 ucu (3') tiyol kaplı GC serisi DNA dan geçen elektrik yükü ölçüldü. Şekil 4.8'de ssDNA'nın konumlandığı nanotel aygıt, aygıt üzerindeki boşluğun tek bir AuNP ile sıkıştırılıp kapatılması sonucu oluşan moleküler eklemin I-V davranışı verilmiştir.



Şekil 4.8. Nanotele yerleştirilmiş ssDNA'nın nir Au nanoparçacık ile kapatılması durumunda ölçülen I-V davranışı

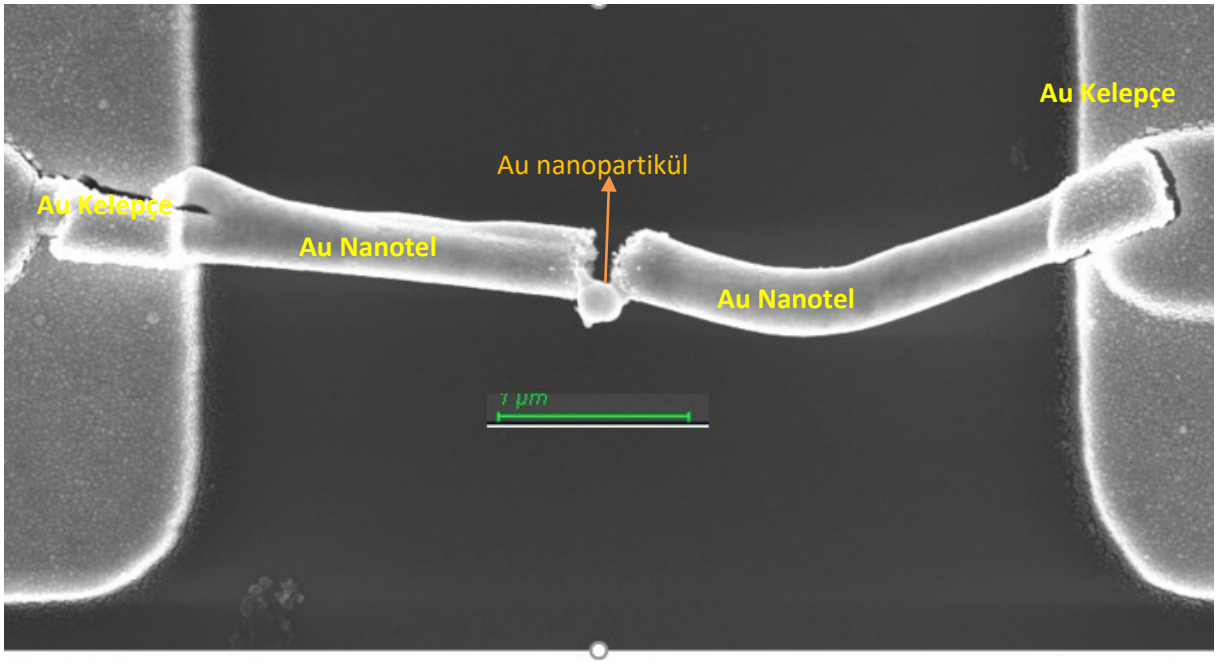
Şekil 4.8'e göre GC formunda ssDNA kullandığında I-V davranışı pozitif gerilim sürümünde lineer özellikte ancak negatif verevde diyot türü davranış sergilemiştir. Özel olarak düşük gerilim aralığında, ±0.6 V sürümünde ohmik davranış sergilediği kaydedilmiştir. Tek-sarmal DNA çift sarmal DNA'da olduğu gibi pi-orbitalleri istiflenmesi sergileyen moleküler yapıya sahip olmadığından yük iletimin zayıf olduğu bilinir bu yüzden Teraohm mertebesine yakın bir direnç değeri bulunması beklenen bir durumdur (Endres vd., 2004). Bu projede geliştirilen çip-üstü sabit Au nanotel bazlı elektrotlar kullanarak 15 baz çiftine sahip GC serili ssDNA'dan lineer tipli I-V davranışı kaydedilmiş ve direncinin 250-500 GΩ arasında olduğu bulunmuştur. DNA molekülünün nanotel ve Au nanoparçacık arasına çift molekül bariyeri formuyla iyi bir elektrik kontak sağlayacak şekilde sıkıştırılmasının böyle bir lineer davranış elde etmekte önemli olduğu düşünülmüştür. Kullandığımız ssDNA'nın negatif bias altında elektriksel davranışına bakıldığında aslında p-tipi yarı iletken davranışı sergilediği söylenebilir ve bu sonuç Yoo vd (2001) tarafından belirtildiği gibi GC formlu DNA'lar p-tipidir.

Bu projede DNA'nın öz iletkenliğini güvenilebilir biçimde ölçmekte kullanılacak özgün bir yöntem üzerinde çalışıldığından özellikle ssDNA öz iletkenliği için sonuçların literatür ile doğrudan birebir karşılaştırma yapmak zordur. Sonuçlarımızın literatür ile en olası karşılaştırılması için ssDNA öz iletkenliğinin taramalı tünel mikroskopi (STM) ile incelendiği araştırma verileri kullanılmıştır (van Zalinge vd., 2006; Ehlich ve Hörber, 2009). Van Zalinge vd. (2006) (2009) her iki ucu tiyol bağlı 3,4 ve 5 baz uzunluklu A,T,G ve C formlu tek-sarmak (ss) oligonükleotitler ve çift sarmal oligonükleotitler ile kuru ve sulu çözelti için kapsamlı elektriksel ölçümler gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada 3 zincir uzunluklu C için 0.4 GΩ, 4 zincir C için 1.25 GΩ ve 5 zincir C için 5.25 GΩ değerlerinde dirençler kaydedilmiştir. Tek sarmal G zinciri ile çalışıldığında (C ile olandan biraz daha yüksek iletkenlikte); 3 zincir G için 0.25 GΩ, 5 zincir G için 0.4 GΩ ve 7 zincir G için 0.91 GΩ direnç ölçülmüştür. Bu projede kullanılan tek-sarmal oligonükleotit GC serili 15 baz çiftli sadece tek ucu tiyol bağlı moleküldür ve 250-400 GΩ direnç yukarıda verilen sonuçlarla mukayese edildiğinde uyumlu bir sonuç olduğu görülür. Tek-sarmal DNA'ya her bir C serisi eklendiğinde direncin 4 kat büyüdüğü, G eklenmesinde ise yaklaşık 2 kat büyüdüğü kabaca kabul edilirse 15GC için birkaç yüz GΩ direnç beklenir. Ehlich ve Hörber (2009) ise sulu çözelti için CAGT serili bir ucu hekzantiyol kaplı ssDNA ile yaptığı çalışmada 10 ve 2 GΩ arasında değişen direnç değerlerini bulmuştur. STM ile DNA molekülüne elektriksel kontak sağlamak zorlu bir işlemdir. Böyle tip bazlı kontakta DNA'ya temas mesafesinin iyi ayarlanması gereklidir ve mekanik kontak ne kadar güçlü sağlanırsa molekül-metal kuplajı o kadar başarılı sağlanabilir. Bu projede geliştirilen ölçüm yöntemi de DNA'yı nanotel ve Au nanoparçacık arasına güçlü mekanik kuvvetle sıkıştırdığından iyi bir elektriksel kontak sağlanıp güvenilir ve literatür ile uyumlu sonuçlar alınabilir.

4.5.2. Çift sarmal DNA (dsDNA)'nın Öz İletkenliğinin Doğrudan Ölçülmesi

Nanotel nanogap elektrotlar kullanılarak 12 ve 15 baz çifti uzunluklu tek ve çift-sarmal DNA'nın elektronik davranışı DC modda I-V ölçümleriyle incelendi. Çift-sarmal (double-stranded, ds)DNA'nın dupleks oluşturarak π-orbitalleri istiflenmesi yapmasıyla ssDNA'ya göre daha yüksek elektriksel iletkenliği sahip olduğunu (Enders vd., 2004) bildiğimiz için ilk I-V ölçümlerine çift-sarmal (ds) 12 baz çift uzunluklu DNA'dan tek sarmala oranla daha yüksek iletkenlik değerleri ölçülmesi beklendi.

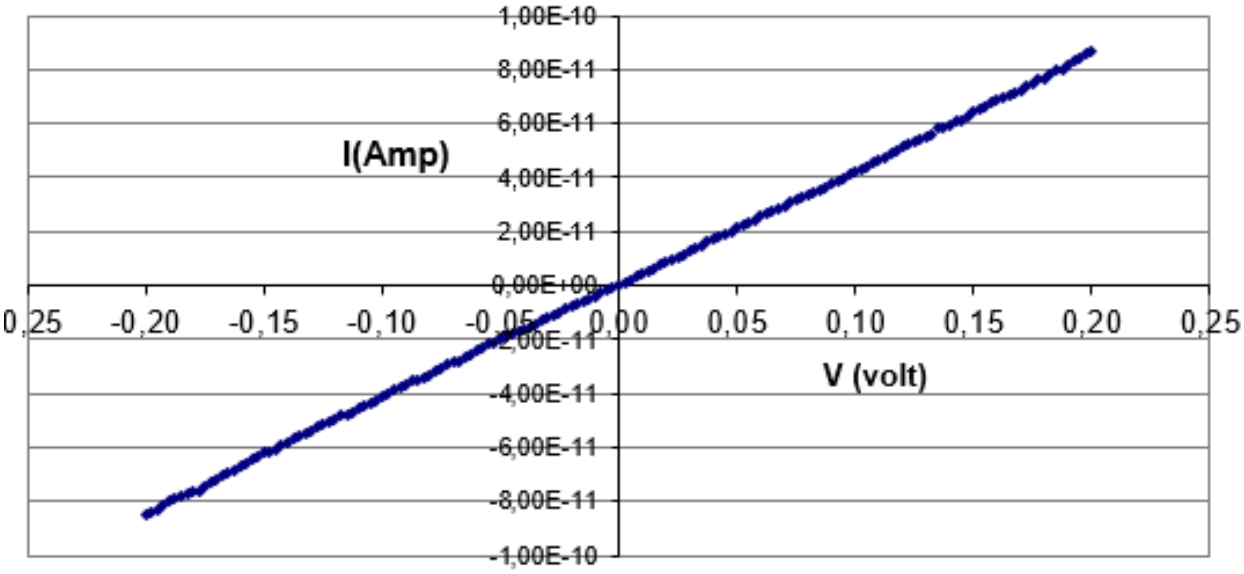
Şekil 4.9'da gösterildiği mikroçip üzerindeki elektrot çifti arasına yerleştirilmiş ve arası yaklaşık 200 nm açık Au nanotel her iki ucundan Au kelepçe katman ile sabitleştirildi. Daha sonra bu nanogap elektrotun bulunduğu çip oksijen plazma yardımıyla temizlendi ve üzerine 100 uL 10 uM dsDNA (5'tiyol(CH2)6GCGCGCGCGCGC3' ve 3'Tiyol(CH2)3GCGCGCGCGCGC5' hibrid yapısı) döküldü. DNA çözeltisi çip üzerinde 3 saat boyunca yavaşça çalkanarak Au-S bağı ile nanotel üzerine tutturuldu. Üzeri dsDNA kaplı nanotel üzerindeki boşluk 250 nm çapında bir Au nanoparçacık (AuNP) ile kapatılarak nanotel/DNA/AuNP/DNA/nanotel eklemi oluşturuldu (Şekil 4.9). Bu eklem çifte DNA molekül bağlantısı içeren double-barrier formundadır. Bu DNA ekleminin elektronik davranışı I-V ölçümleriyle incelendi.



Şekil 4.9. DNA kaplı Nanotelde boşlupun bir AuNP ile kapatılması.

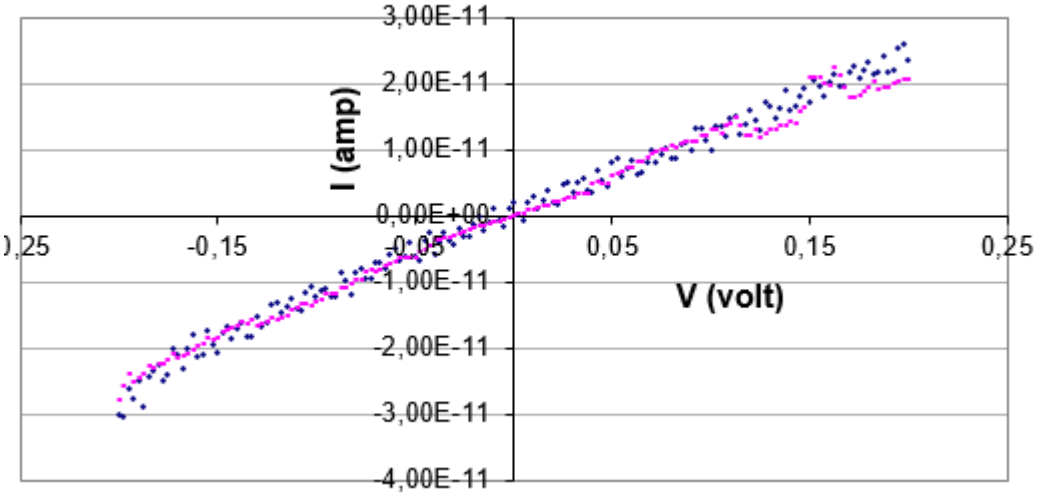
Şekil 4.9'da verilen eklem yapısı açıkça görüldüğü gibi elektriksel olarak kapalıdır ve DC modunda voltaj uygulandığında DNA'nın öz iletkenliği ilişkili yük akışı gerçekleşir. Yukarıda gösterilen nanotel aygıta ±0.2 Volt aralığında uygulanan voltaj sürümü kaynaklı kaydedilen

akım değerleri Şekil 4.10'da gösterilmiştir. 12 baz çift uzunluklu GC yapılı bu dsDNA'dan alınan I-V eğrisi 1 Volt civarında nA seviyesinde akım geçişine izin vermiştir. I-V ölçümlerimizde 0.2 Volt üstünde gerilimlerde kararsızlıklar oluştuğundan çalışmalarımıza üst gerilim tarama sınırı olarak kabul edilmiştir.



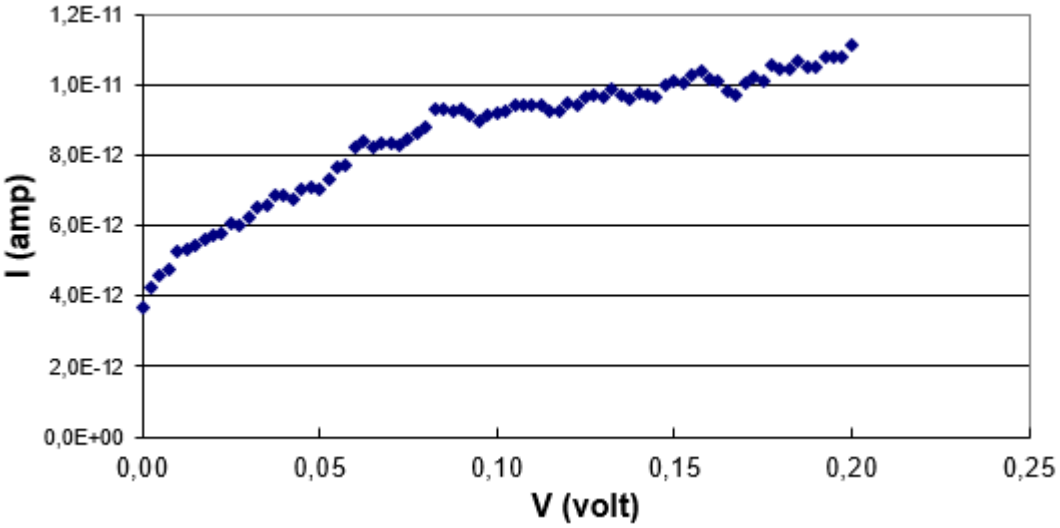
Şekil 4.10. Çift-sarmal 12 baz çiftli DNA'nın I-V davranışı.

AuNP kullanarak oda koşulu çift DNA bariyeri I-V ölçümlerimiz Bashir (Iqbal vd., 2005) ve Janes (Mahapatro vd., 2009) gurupları sonuçlarında verilen akım değerlerine yakın değerler bulunmuştur, ve lineeritesi daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Bunun nedenini elektrik devresinin bir nanoparçacık ile sağlam şekilde kapatılması ve parçacığın kütlesi nedeniyle DNA-metal kuplajının iyi sağlanmış olmasına bağlıyoruz. Şekil 4.11 de I-V ölçüm sonucu kullandığımız DNA'nın koherent elektron tünelleme yoluyla elektron transportu sağladığını işaret etmektedir. Bunun yanında Au nanoparçacık da elektron hunisi gibi davranarak elektron taşınımını kolaylaştırmaktadır. Oda koşulunda yapılan bu I-V ölçümlerinin daha önce Mahapatro vd. (2009) da belirtildiği oksidasyondan etkilenme durumu incelendi. Bunun için 5 dk aralıkla toplam 20 ayrı ölçüm yapıldı ve 1 saat içinde I-V davranışın büyük oranda etkilenmediği bulundu (Şekil 4.11). Au nanoparçacıklar kıstırılmış dsDNA'nın iki ayrı I-V ölçümünde lineer davranış korunmuş sadece ölçülen akım değerlerinde küçük bir azalma kaydedilmiştir. Bu durum bize AuNP ile DNA'nın sıkıştırılmasının oksidasyona karşı koruyucu bir etkisi olduğunu gösterdi.



Şekil 4.11 Oda koşulunda tekrar edilen I-V ölçümleri

Çift-sarmal DNA eklemin 3 gün sonra yapılan I-V ölçümlerinde Iqbal vd., (2005) ve Mahapatro vd. (2009) tarafından elde edilen sonuçlara tıpa tıp benzer sonuçlar alındı (Şekil 4.12). Bunun nedeni olarak 3 gün boyunca buzdolabında bekletilen çipte soğuktan dolayı metaldeki büzüşme nedeniyle AuNP-DNA arasında bağlantının bir miktar zayıflaması olduğunu düşünüyoruz. Çünkü oda koşulunda AuNP ile kıstırılan DNA ekleminden her zaman lineer I-V davranışı alındı,

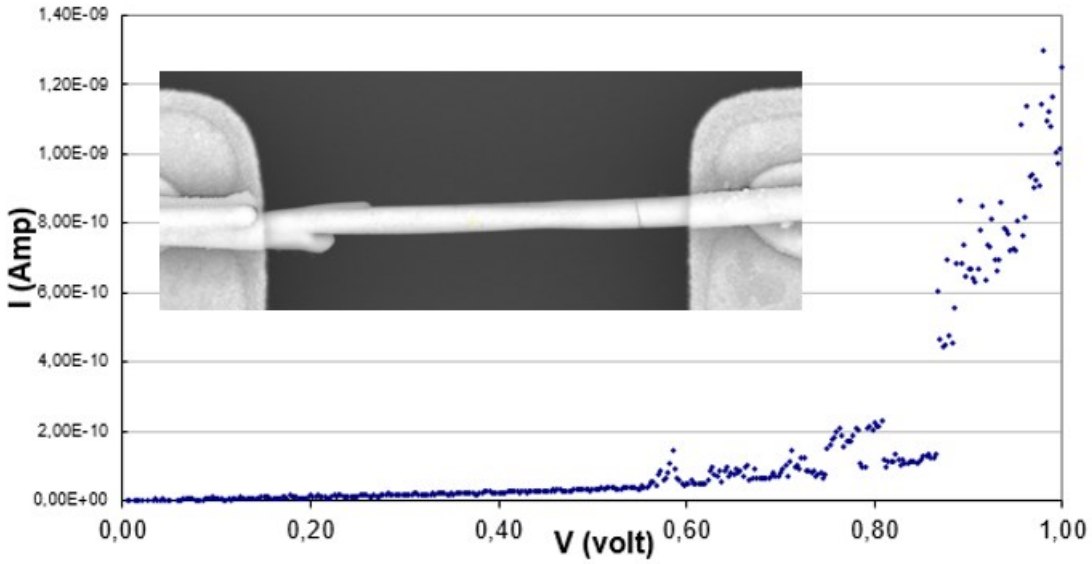


Şekil 4.12. DsDNA'dan 3 gün sonra tekrarlanan I-V ölçümü

Nanotel nanoboşluk elektrotların dsDNA öz iletkenlik/direnç ölçümlerinde kullanılmasında GC yapılı oligonükleotit için 2.5 ile10 GΩ arsında direnç bulunmuştur. Bu direnç dsDNA'nın nanotel ve Au nanoparçacık arasına çift tünel bariyer formu için ölçülmüştür ve beklendiği gibi ssDNA

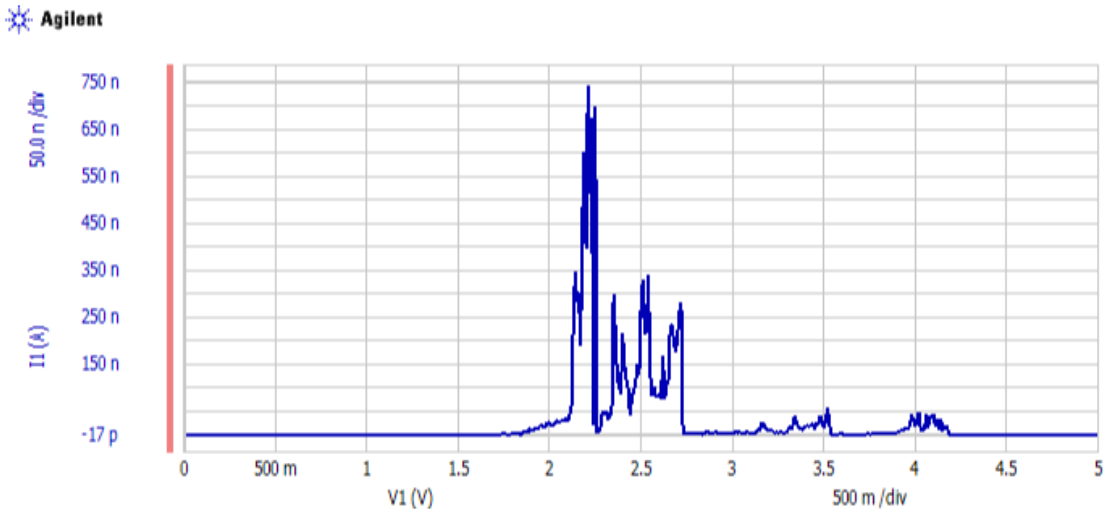
dan iki mertebe büyüktür (Endres vd., 2004). Bu sonuç literatürle ile oldukça uyumlu bulunmuştur. Önerdiğimiz ölçüm metoduna benzer bir yaklaşım kullanan Hwang vd (2003) üzeri 60 baz çifti uzunluğunda çift sarmal poly(G) poly (C) DNA/oligonükleotit kaplı 20 nm çapında Au nanopartkülleri kendiliğinden düzenleme yoluyla elektrot arası boşluğa yerleştirmiş ve oda sıcaklığında I-V ölçümleri gerçekleştirmiştir. ±2.0 V gerilim aralığında gerçekleştirilen akım-gerilim ölçümlerinde düşük verevlerde lineer davranış sergilenmiş olup GΩ mertebesinde direnç değeri gözlenmiştir. Iqbal vd. (2005) 18 baz çiftli GC oranı %44 ve 55 dsDNA için ±1.0 V aralığında gerçekleştirilen I-V ölçümlerinde sırasıyla 6.18 ve 4.49 GΩ direnç değeri hesaplamıştır. Purdue üniversitesinde gerçekleştirilen dsDNA öz iletkenlik ölçümlerinde elektron iletim mekanizmasının koherent tünelleme ile gerçekleştiği öne sürülerek 15 baz çiftli GC dsDNA için iletkenlik nS mertebesinde bulunmuştur (Mahapatro vd., 2007). Duliç vd. (2009) 12 baz çiftli yüksek GC içerikli dsDNA'nın öz iletkenliğini mekanik kırık eklem üzerinde çalışmış ve lineer bir I-V eğrisi elde ederek 12 baz çiftinden 9'u GC olan dsDNA için 13 nS iletkenlik, 5 GC taşıyan dsDNA için 8.5 nS iletkenlik değeri bulmuştur. STM ile gerçekleştirilen I-V ölçümlerinde 15 baz çiftli PolyG-PolyC dsDNA için öz iletkenlik 1.2 nS olarak bulunmuştur (Van Zalinge vd., 2006). Bu çalışmada 15 bp PolyGC DNA için elde ettiğimiz 2.5 – 10 GΩ direnç değeri yukarıda verilen literatür sonuçları ile uyumluluk içindedir. Bu yüzden geliştirdiğimiz yöntemin DNA'nın öz iletkenliğini güvenilir şekilde ölçmekte kullanılabileceği gösterilmiştir.

Nanotellerde Ag kısmın uzunluğunu tek bir DNA molekülünün sığacağı kadar kısa tutabildiğimiz için DNA'nın direk tel zerinde I-V davranışı da incelenmiştir. Şekil 4.13'de gösterilen nanogap 15 baz uzunluğunda GC formunda dsDNA ile doldurulduğunda Porath vd. (2000) tarafından verilen yarıiletken davranışa rastlanılmıştır. Kullandığımız elektron mikroskopunda çözünürlük bu nanogap yapısını incelemekte yetersiz kaldığından DNA-nanotel bağlantısının durumu üzerine kesin bir yargı yapılamadı. Ancak DNA uzunluğu ve gap mesafesinin iyi ayarlanmaması kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Porth vd. (30) 30 baz çiftli PolyG-PolyC DNA için sabit Pt nanogap elektrot üzerinde gerçekleştirdiği I-V ölçümleri Şekil 4.13'deki gibi band aralıklı yarı-iletken davranışı sergilemesi ve 0.3-0.6V arasında akım rektifikasyonu gözlemlenmiştir. STM ile 12 baz çiftli poly(GC) çift sarmal DNA için yapılan I-V ölçümlerinde deşik tipi taşınım mekanizması önerilerek negatif verevde rektifiye akım ±3.0 V aralığında nA mertebesinde bulunmuştur (Xu vd., 2005).



Şekil 4.13. Nanotel üzerinde dsDNA'nın ystı iletken karakterli I-V ölçüm sonucu.

Bu projede DNA'nın nanaotel üzerine doğrudan yerleştirilmesi ve bir nanoparçacık ile kapatılmaması durumunda tipi yarı iletken davranışın dışında birkaç I-V ölçümde negatif differansiyel rezistans (NDR) davranışı gösteren I-V ölçüm sonuçlara rastlanmıştır. Şekil 4.14'de dsDNA'da Kang vd. (2010) tarafından elde edildiği gibi NDR davranışı gösterilmiştir. Bu davranışın sebebi polaron hopping mekanizması (Kang vd., 2010) ile açıklanır ve genelde molekülde oluşan yapısal deformasyonlardan kaynaklanır. Bu durum ortam koşulları, ölçüm şartları, yüzey etkisi gibi birçok faktörden kaynaklanabilir. Nanoölçekte bir sistem ile ilgilendiğimizden deformasyon kaynağını belirlemek zordur, bu ilginç özellik (Esaki diyot davranışı) moleküler elektronikte anahtar gibi moleküler aygıtların üretilmesi için çok değerlidir. Şekil 4.14'de verilen I-V ölçümü Kang vd (2010) tarafından yapılan elde edilene benzer davranış sergilemiştir.



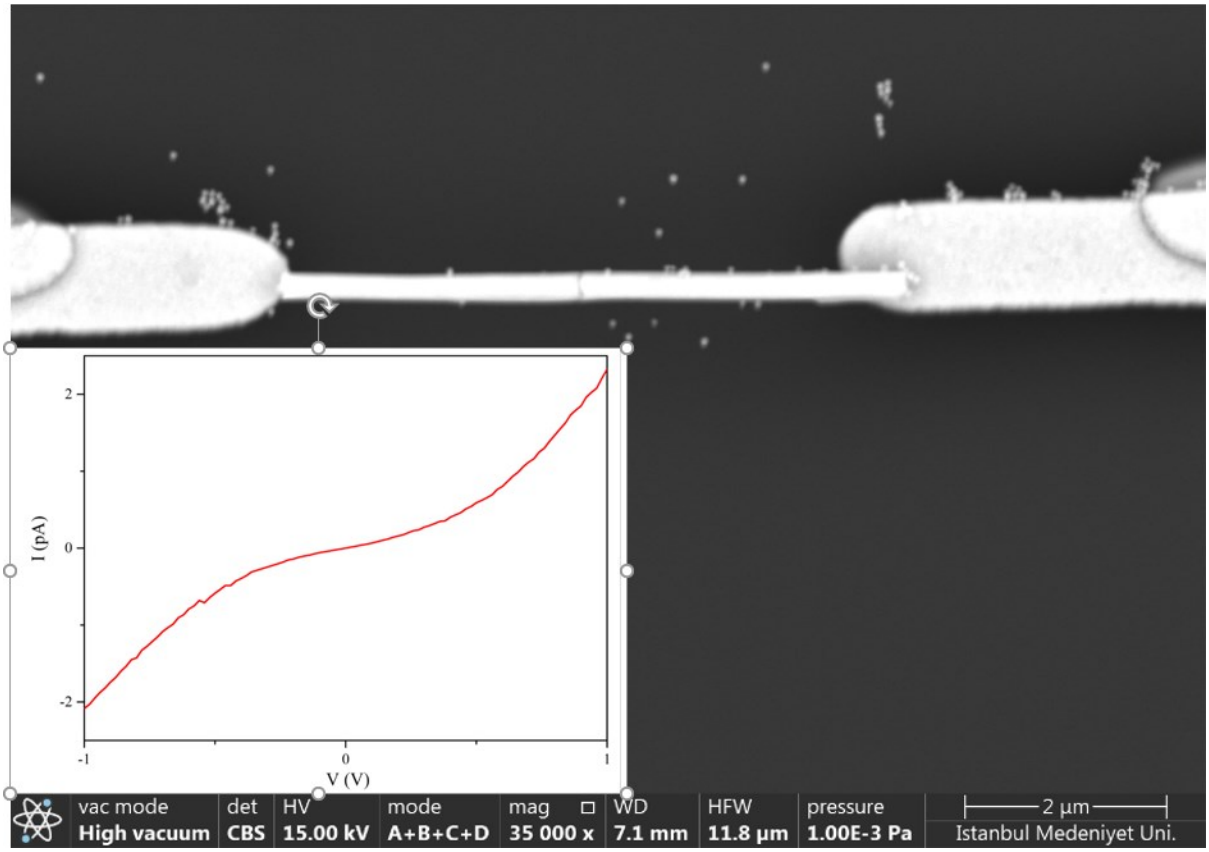
Şekil 4.14. dsDNA'nın NDR tipi I-V davranışı

4.5.2. DNA Hibritleşmesinin Çip Üstünde Karakterizasyonu

DNA hibritleşmesinin çip üstünde elektriksel ölçümlerle belirlenmesi henüz başarılamamış konudur. DNA mikroarray teknolojisi optik (floresan) ölçümlere dayanır ancak I-V ölçümleri gibi direk bir yöntemin kullanılması hem analizlerin hızlı gerçekleşmesini sağlayacak hem de daha ucuzlamasına yol açacaktır. Bu araştırmada nanoboşluk elektrotlarımızla bu zorlu işin üstüne gittik. Şekil 3.7 de verilen yaklaşımı kullanarak önce nanotel üzerine bir ucu Tiyol içeren prob1: CCT AAT AAC AAT ssDNA bağlandı. Daha sonra ortama bu DNA serisine yarı eşlenik GGA TTA TTG TTA AAT ATT GAT AAG GAT ssDNA eklendi. Hibritleşme elektriksel yoldan sıvı ortamda ölçüleceği için ortama tuz eklemek yerine glisin/histidin amino asidi eklendi ve yarım saat etkileşim süresi tanıdı. Son olarak eşlenik DNA'nın kalan yarısı ile etkileşecek prob2 DNA: ATC CTT CTA TAA TTA Au nanoparçacık üzerine bağlı şekilde sisteme eklendi. Bu süre içinde sürekli olarak I-V ölçümleri yapılarak DNA etkileşmesi sıvı ortamda izlendi.

Şekil 4.15'de üzerine prob1 ssDNA eklenmiş nanotel elektrotun (12 nm ayrık nanoelektrot) yarı eşlenik ssDNA ile yarım saat süre içinde etkileşimi sonrasında elde edilen I-V davranışı sergilenmiştir. Bu I-V davranışı ortama Au nanoparçacığa bağlı prob2 eklendiğinde de değişmemiştir. Bunun nedeni Au nanoparçacığın boşluğa yönlenmemesi veya DNA moleküler köprünün boşluğu kapatması olabilir. Şekil 4.15'de gösterildiği gibi nanokırık bölgede herhangi bir parçacık bulunmaması I-V ölçümlerini desteklemektedir. Tek-sarmal DNA için elde edilen sonuca benzer ana doğrusallığı bozulmuş bir I-V davranışı elde edilmiştir. Bu durumda eşlenik DNA'nın elektrik alan altında uzayarak elektrotlar arasında köprü kurduğu düşünülebilir. Au

nanotel üzerindeki kırığın DNA ile doldurulması durumunda devre elektriksel olarak kapalı olacağından boşluk üzerine elektrik alan kaynaklı nanoparçacık yönlenmesi gerçekleşmedi.



Şekil 4.15. Nanoelektrot üzerinde DNA hibritleşmesinin I-V ölçümü sonucu.

Nanomertebede bir elektrot sistemi ile DNA hibritleşmesini prob1 ve eşlenik DNA arasında gösterebilmemize rağmen eşlenik DNA'nın kalan yarısı prob2 DNA ile etkileşemedi. Çip üstünde DNA hibritleşmesi ve I-V ölçümlerini aynı anda gerçekleştirmek amacı projemizde bizi ileriye taşıyacak bir araştırma konusu olarak kısıtlı maddi ve teknik imkanlarla çalışıldı. Kısmi olarak Prob1 ve buna yarı eşlenik ssDNA'yı çip üzerinde hibritleştirip ve bu DNA eşleşmesinin elektriksel kanıtını göstermek önemli bir birikim kazandırmıştır. Bu deneyimden yola çıkarak çip üstü elektriksel DNA mikrodizin teknolojisi geliştirmek yönünde yeni proje önerileri hazırlanarak ulusal ve uluslar arası araştırma çağrılarına gönderilecektir

5. SONUÇ

116E251 numaralı bu projede DNA'nın öz iletkenliğini ölçmede kullanılacak yeni bir çip üstü nanotel bazlı nanoelektrot üretildi. Birbirinden 5 ile 100 nm mesafede ayrılmış nanotel elektrotlar hazırlandı, akım gürültüsü femtoamper seviyesinde olacak şekilde çalışıldı ve böylece düşük akım ölçümleri gerektiren DNA nanoelektroniğinde kullanıldı.

Bu projede geliştirilen yöntemle ucuz ancak güvenilir ve kararlı birbirinden nanometre mesafede ayrılmış nanotellerin üretimi gerçekleştirildi. DNA iletkenliği hala cevabını arayan bir araştırma alanıdır. Şimdiye kadar DNA'nın yalıtkan, yarı-iletken, iletken hatta süper iletken olduğunu gösteren sonuçlar alınmıştır. Bu farklılığın nedenlerinin başında uygulanan ölçüm tekniği (sabit elektrotlar veya taramalı mikroskop uçları), DNA uzunluğu ve üzerindeki baz çeşitliliği, ölçüm şartları, ortam ve ölçüm koşulları gelir. Bu proje kapsamında DNA'nın tek sarmal ve çift-sarmal durumda elektronik davranışı ve en son DNA hibritleşmesinin elektriksel ölçümle yerinde izlenmesi çalışılmıştır. Bu projede DNA'nın elektrot ve bir Au nanoparçacık arasına sıkıştırılması yoluyla çifte-bariyer eklem yapısında elektron transport durumu incelenmiştir. Bu tür bir ölçüm tekniğinin DNA'nın öz iletkenliğini ve elektriksel davranışını belirlemede kullanışlı olduğu gösterilmiştir.

Geliştirdiğimiz çifte-bariyer eklem tekniği ile tek-Sarmal DNA'nın düşük gerilimlerde (±0.2 Volt) ohmik davranışı sergilediği ve teraohm (TΩ) mertebesinde dirence sahip olduğu gösterilmiştir. Çift-Sarmal DNA incelendiğinde ohmik davranış teyit edilmiş ve iletkenliğin tek-sarmalda olana göre 100 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Çift-sarmal DNA şayet çifte bariyer ölçüm tekniği kullanılmazsa ohmik davranıştan saptığı yarıiletken özellikte I-V davranışı sergilediği gösterilmiştir. Cift-sarmal DNA'nın en çok desteklendiği elektriksel davranışı yarı-iletkendir ve deneylerimizde bu davranış geniş bant aralıklı yarı iletken I-V ölçümleri ile gösterilmiştir. Çifte-bariyer tekniğinde DNA elektrot arasına 200 nm çapında Altın nanoparçacıklar ile kıstırıldığından DNA-elektrot kontağının güçlendiğini ve moleküle elektron transportu için moleküldeki elektron seviyesinin Fermi seviyesine göre hizalandığını düşünüyoruz. Altın nanoparçacık kendi ağırlığı nedeni ile DNA üzerine kuvvet uygular, bu yaklaşım da tıpkı lineer davranışların elde edildiği AFM ölçümleri (Xu vd., 2004; Tao, 2006) gibi lineer I-V davranışının oluşumuna yol açabilir.

Bu projede DNA hibritleşmesi ilk kez sıvı ortamda sabit elektrotlar yardımıyla elektriksel ölçümlerle yerinde izlenmeye çalışılmıştır. Bu zorlu işte kısmı başarı elde edilmiş tek-sarmal DNA'nın eşlenik DNA yarı-eşleşmesinde pA seviyesinde sinyaller elde edilmiştir.

.

Bu projede ulaşılan hedefler şunlardır:

1. Çip üstünde sabit nanotel bazlı nanoboşluk elektrotların üretimi ve karakterizasyonu başarılmıştır.
2. Çifte-bariyer tekniği ile tek-sarmal DNA'nın elektriksel davranışı incelenmiş ve TeraOhm mertebesinde direnç ölçülmüştür.
3. Çifte-bariyer tekniği ile çift-sarmal DNA'nın elektriksel davranışı ve elektron transport mekanizması belirlenmeye çalışılmış, direnci GigaOhm mertebesinde bulunmuştur.
4. Çift-sarmal DNA'nın elektrotlar arasında moleküler köprü kurması başarılmış ve yarı-iletken türü elektronik davranışını kaydedilmiştir.
5. DNA hibritleşmesi çip üstünde elektriksel yoldan yerinde incelenmiş ve kısmi olarak yarı çift sarmal-yarı tek sarmal yapı oluşturularak elektriksel özelliği belirlenmiştir.

ÖNERİLER

Bu proje nanoölçekte çalışmalar gerektirdiğinden büyük zorluklarla karşılaşılarak çalışılmıştır. Proje önerisinde teklif edilen prob istasyonunun satın alınması yerine hizmet alımı önerilmesi en büyük sıkıntıyı oluşturmuştur. DNA zayıf iletken yapıda olduğundan düşük akımlarda (femtoamper) çalışmalar gerektirmiştir, hizmet alımı yapılan yerde bulunan prob istasyonu bu koşulu sağlamadığından ek bir kaynak bulmak için çok emek ve uzun zaman verilmiştir. EEEAG biriminin fasıl aktarımında gösterdiği esneklik ve anlayış bu eksikliğin giderilmesinde büyük rol oynamıştır. Düşük akım ölçümleri yapmaya uygun bir sistem kurmanın getirdiği avantajlar ve bu proje önerisinde kazanılan yetiler ve bilgi birikimi ile ekibimizce DNA'nın daha hassas çalışılması mümkün olacaktır.

DNA'nın kendini eşleme olayını yerinde ve gerçek zamanlı incelemekte kullanılabilecek elektrot sistemi tasarımında kısmi başarı sağlanmıştır. Bunun başlıca nedeni mevcut bütçe kısıtlı nanaoelektrot ile sadece tek bir DNA sistemi üzerine çalışılmasıdır. Bilindiği gibi COVID-19 gibi viral bir salgında virüs RNA (DNA da timin yerine Urasil içeren molekül) yapısının dizilimin belirlenmesi çok önemlidir. Geliştirdiğimiz yöntem RNA sekansını çalışmak için çok elverişli bir platformdur. Bu proje ürününü daha da geliştirerek bunu DNA/RNA sekansı analizinde kullanmak mümkündür.

KAYNAKLAR

Abdalla, S. 2011. Electrical conduction through DNA molecule', *Prog. Biophys. Mol. Biol*. 106: 485–497.

Aradhya, S.V., Venkataraman, L. 2013. Single-molecule junctions beyond electronic transport. *Nature Nanotechnology*. 8:399-410.

Arzubiaga, L., Golmar, F., Llopis, R., Casanova, F., Hueso, L.E. 3013. Tailoring palladium nanocontacts by electromigration. *Applied Physics Letters* 102, 193103.

Alivisatos, P. 2004. The use of nanocrystals in biological detection. *Nature Biotechnology*. 22:47-52.

Asbury, C.L, and van den Engh, G. 1998. Trapping of DNA in nonuniform oscillating electric fields. *Biophysical Journal*. 74:1024-1030.

Balasubramanian, K. 2010. Challenges in the use of 1D nanostructures for on-chip biosensing and diagnostics: a review. *Biosensors and Bioelectronics*. 4:1195-1204.

Bandodkar, A.J., Wang, J. 2014. Non-invasive wearable electrochemical sensors: a review. *Trends in Biotechnology. 32:363-371.*

Bard, A.J., Faulkner, L.R. 2010.. *Electrochemical Methods.* Wiley, New York, NY.

Beebe, J.M., Engelkes, V.B., Miller, L.L, Frisbie, C.D. 2002. Contact Resistance in Metal−Molecule−Metal Junctions Based on Aliphatic sams: Effects of Surface Linker and Metal Work Function. *Journal of American Chemical Society.*. 124:11268-11269.

Berlin, Y.A., Ratner, M.A. 2007. Variable-range charge hopping in DNA', Charge Migration DNA: Perspect. Phys., *Chem. Biol*., 2007, pp. 45–61.

Bergveld, P., Thiry years of ISFETOLOGY. What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years. *Sensors and Actuators B*. 88:1-20.

Bezerril, L.M., Moreira, D.A., Albuquerque, E.L., Fulco, U.L., Oliveira, E.L., de Sousa, J.S. 2009. Current voltage characteristics of double-strand DNA sequences. *Physics Letters A*. 373:3381-3385.

Bixon, M., Jortner, J.: 'Charge transport in DNA via thermally induced hopping', *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, 123, (50), pp. 12556–12567

Bolotin, K.I., Kuemmeth, F., Pasupathy, A.N., Ralph, D.C. 2006. From ballistic transport to tunneling in electromigrated ferromagnetic breakjunctions. *Nano Letters.* 6:123-127.

Boon, E.M., Barton, J.K. 2002. Current opinions in structural biology. *Nature.* 12:320.

Brout, C., Xiang, L., Palma., J.L., Li., Y., Tao, N. 2015. Tuning the electromechanical properties of single DNA molecular junctions. Journal of American Chemical Society. 137:13933-13937.

Cagnin, S., Caraballo, M., Guiducci, C., Martini, P., Ross, M., Santaana, M., Danley, D., West, T., Lanfranchi, G. 2009. Overview of electrochemical DNA biosensors:new approaches to detect the expression of life. *Sensors*. 9:3122-3148.

Chen, X., Guo, Z., Yang, G-M., Li, J., Liu, J-H., Huang, X-L. Electrical nanogap devices for biosensing. *Materials Today.* 13:28-41.

Choi, I., Choi, Y. 2012. Plasmonic nanosensors: review and prospects. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. 18:1110-1121.

Delaney, S.,Barton, J. 2003. Long-range DNA charge transport *J. Org. Chem*. 68:6475–6483.

Dewarrat, F., Calame. M., and Schonenberger C. 2002. Orientation and Positioning of DNA molecules with an electric field technique. *Single Molecules*. 3: 189-193.

Drummond, T.G., Hill, M.G., Barton, J.K. 2004. Electrochemical DNA sensors. Nature Biotechnology. 21:1192-1199.

Dulic, D., Tuukanen, S., Chung, C-L., Isambert, A., Lavie, P., Filoramo, A. 2009. Direct conductance measurement of short single DNA molecules in dry conditions. *Nanotechnology*. 20:115502.

Durkan, C., Schneider, M.A., Welland, M.E. 1999. Analysis of failure mechanisms in electrically stressed Au nanowires. *Journal of Applied Physics*. 86:1280.

Eley, D., D., D., I., Spivey., 1962. Semiconductivity of organic substances .9. Nucleic acid in dry state. *Trans. Faraday Soc.* 58 :411–417.

Ehlich, R., Hörber, J.K.H. 2009. Molecular order affecting electron transport through ssDNA. Ultramicroscopy. 109:1074-1079.

Enders, R.G., Cox, D.L., Singh, R.R.P. 2004. Colloquium: The quest for high-conductance DNA. Reviews of Modern Physics. 76:195-214.

Fantanas, D., Brunton, A., Henley, S.J., Dorey, R.A. 2018. Investigation of the mechanism for current induced network failure for spray deposited silver nanowires. *Nanotechnology* 29:465705.

Hurst, S.J., Lytton-Jean, A.K.R., Mirkin, C. 2006. Maximizing DNA loading on a range of gold nanoparticle sizes. *Analytical Chemistry.* 78:8313-8318.

Hwang, J., S., K., J., Kong, D., Ahn, G., S., Lee, D., J., Ahn, S., W., Hwang., 2002. Electrical transport through 60 base pairs of poly(dG)–poly(dC) DNA molecules. *Appl. Phys. Lett.* 81 :1134.

Jo, Y.S. Lee, J.Y., Roh. Y. 2003. Current-voltage characteristics of λ- and poly-DNA. *Materials Science and Engineering C.* 23:841-846.

Gascoyne, P.R.C., Vykoukal, J. 2002. Particle separation by dielectrophoresis. *Electrophoresis*. 23: 1973-1983.

Germishuizen, W.A., Walti, C., Wirtz, R., Johnston M.B., Pepper, M., Davies, A.G., and Middleberg, A.P.J. 2003. Selective dielectrophoretic manipulation of surface immobilized DNA molecules. *Nanotechnology*. 14: 896-902.

Giese, B., Amaudrut, J., Köhler, A.K., Spormann, M., Wessely, S. 2001.Direct observation of hole transfer through DNA by hopping between adenine bases and by tunneling. *Nature*. 412:318.

Gue, M.S.-S., Xiong, A.M.2008. Characteristics of alternating current hopping conductivity in DNA sequences. *J., Phys. Lett. A*, 372:3259

Gurtner C, Tu E, Jamshidi N, Haigis RW, Onofrey TJ, Edman CF, Sosnowski R, Wallace B, Heller MJ. 2002. Microelectronic array devices and techniques for electric field enhanced DNA hybridization in low-conductance buffers. *Electrophoresis*. 23: 1543-1550.

Henderson, J.J., del Barco, C.M., Mishra, A., Crhistou, G. 2007. Fabrication of nanogapped single-electron transistors for transport studies of individual single-molecule magnets. *Journal of Applied Physics*. 101:, 09E102

Hennig, D. 2002. Control of electron transfer in disordered DNA under the impact of viscous damping and an external periodic field. *Eur. Phys. J. B*, 30:211–218.

Holmlin, R.E., Dandliker, P.J., Barton, J.K. 1997. Charge Transfer through the DNA Base Stack. *Angew. Chem. Intl. Ed*. 36:2714-2730.

Holzel, R., Gajovic-Eichelmann, N., and Bier, F.F. 2003 Oriented and vectorial immobilization of linear M13 dsDNA between interdigitaded electrodes-towards single molecule DNA nanostructures. *Biosensors and Bioeelctronics* 18: 555-564.

Iqbal, S.M., Balasundaram, G., Ghosh, S., Bergstrom, D.E. Bashir, R. 2005. Direct current characterization of ds-DNA in nanogap junctions. *Applied Physics Letters*. 86:153901.

Joe, Y.S. Lee, S.H., Hedin, E.R. 2010. Electron transport through asymmetric DNA molecules. *Physics Letters A.* 23:2367-2373.

Jones, T.B. 1995 *Electromechanics of Particles* Cambridge University Press, Cambridge, Great Britain.

Jortner, J., Bixon, M., Langenbacher, T., Michel-Beyerle, M.E. 1988. Charge transfer and transport in DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95:12759–12765

Kang, N., Erbe, A., Scheer, A. 2008. Electrical characterization of DNA in mechanically controlled break junctions. *New Journal of Physics*. 10:1-10.

Kassegne, S.K., Arya, B., Yadav, N. 2009. Numerical Modeling of the Effect of Histidine Protonation on DNA Hybridization and pH Distribution in Electronically Active Microarrays. *J. Sensors Actuators, B*. 143:470-481.

Kassagne, S., Wibowo, D., Chi, J., Ramesh, V., Narenji, A., Khosla, A., Mokili J. 2014. AC electrical characterisation and insight to charge transfer mechanisms in DNA molecular wires through temperature and UV effects. IET Nanobiotechnology. 9:153-163.

Kasumov, A.Y., Kociak, M., Gueron, S. 2001. Proximity-induced superconductivity in DNA. *Science*. 291:280-282.

Keating, C.D., Natan, M.J. 2003. Striped metal nanowires as building blocks and optical tags. *Advanced Materials*, 15: 451-454.

Kizil, R. 2013. *Dielectrophoretic Assembly Approach to Fabricate Nanowire-based Nanogap Devices*. In: Low Dimensional Semiconductor Structures. Springer Editor: N. Horing, H. Ünlü

Kizil, R, Konyar, M., Çetin, E. 2018. Feedback Controlled Break Junction in Au-Ag-Au Nanowires, 2018 IEEE 13th Nanotechnology Materials and Devices Conference (NMDC), Portland, OR, 2018, pp. 1-4. doi: 10.1109/NMDC.2018.8605840

Klotsa, D., Römer, R.A. Turner, M.S. 2005. Electrical transport in DNA. *Biophysical Journal*. 89:21”87-2198.

Li, M, Bhiladvala, R.B. Morrow, T.J., Sioss, J.A. Lew, K.K. Redwing, J.M., Keating, C., Mayer, T.S. 2008. Bottom-up assembly of large area nanowire resonator arrays. *Nature Nanotechnology*. 3:88-92.

Li, T., Hu, W. Zhu, D. 2010. Nanogap electrodes. *Advanced Materials*. 22:286-300.

Li, X., He., J., Hilhath, J., Xu, B., Lindsay, S.M, Tao., N.J. 2006. Conductance of Single Alkanedithiols: Conduction Mechanism and Effect of Molecule−Electrode Contacts. *Journal of American Chemical Society*. 128: 2135–2141

Lörtscher, E. 2013. Wiring molecules into circuits. *Nature Nanotechnology* 8:381-384.

Ly, D., Sanni, L., Schuster, G.B. 1999. Mechanism of charge transport in DNA: internally-linked anthraquinone conjugates support phonon-assisted hopping. *J. Am. Chem, Soc*. 121: 9400–9410.

Mahapatro, A.K., Jeong, K.J., Lee, G.U., Janes, D.B. 2007. Sequence specific electronic conduction through poyion-stabilized double-stranded DNA in nanoscale break junctions. *Nanotechnology*. 18:195202.

Mahapatro, A.K., Lee, G.U., Jeong, K.J., Janes, D.B. 2009. Stable and reproducible electronic conduction through DNA molecular junctions. *Applied Physics Letters*. 95:083106.

Malyshev, A.V. 2007. DNA double helices for single molecule electronics. *Physical Review Letters*. 98:096801-4.

Motto, P., Dimonte, A., Rattalino, I., Demarchi, D., Piccinin, D., Civera, P. 2012. Nanogap structures for molecular nanoelectronics. Nanoscale Research. Letters. 7:113-122

Murphy, C.J., Arkin, M.R., Ghatlia, N.D., Bossmann, S., Turro, N.J., Barton, J.K. 1994. Fast photo-induced electron transfer through DNA intercalation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91:5315–5319.

Murphy, C.J.,Arkin, M.R., Jenkins, Y. 1993. Long-range photo-induced electron transfer through a DNA helix. *Science*. 262:1025-1029.

Nicewarner-Pena, S.R., Freeman, R.G., Reiss, B.D., He, L., Pena, D.J., Walton, I.D., Cromer, R., Keating, C.D., Natan, M.J. 2001. Submicron metallic barcodes. *Science*, 294: 137-141.

Nogues, C., Cohen, S.R., Daube, S., Apte,r N., Naaman, R. 2006. Sequence dependence of charge transfer properties of DNA. *J. Phys. Chem. B*. 110:8910-8913

Palecek, E., Jelen, F. 2002. Electrochemistry of nucleic acids and development of DNA sensors. *Critical Review of Analytical Chemistry*. 3:261-270.

Park, Hongkun, Lim, A.K.L., Alivisatos, A.P., Parl, J., McEuen, P.L. 1999. Fabrication of metallic electrodes with nanometer separation by electromigration. *Applied Physics Letters*. 75:301-303

Park, J., Pasupathy, A.N., Goldsmith, J.I., Chang, C., Yaish, Y., Petta, J.R., McEuen, P.L., Raplph, D.C. 2002. Coulomb blockade and the Kondo effect in single-atom transistors. *Nature* 417: 722-725.

Park, S.J., Taton, T.A., Mirkin, C.A. 2002. Array-based electrical detection of DNA with nanoparticle probes *Science*. 295:1503-1506.

Patolsky, F., Lieber, C:M. 2005. Nanowire nanosensors. *Materials Today*. 8:20-28.

Pipinys, P., Kiveris, A. 2008. Evidence of phonon-assisted tunneling in electrical conduction through DNA molecules. *PMC Phys. B*, 1:6-12.

Pohl. H.A. 1978. *Dielectrophoresis*. Cambridge University Press, Cambridge, GB.

Porath, D., Bezryadin, A., de Vries, S., Dekker, C. 2000. Direct measurement of electrical transport through DNA molecules. *Nature*. 403:645-638.

Porath, D., Lapidot, N., Gomez-Herrero, J.M. 2005. *Charge transport in DNA-based devices*. In. Introducing Molecular Electronics. Eds: Cuniberti, G., Richter, K., Fagas, G. Book Part II, Chapter 16. Pages 411-444.

Reiss. B.D., Griffith Freeman, R., Walton, I.D., Norton, S.M., Smith, P.C., Stamos, W.G., Keating, C.D., and Natan, M.J. 2002. Electrochemical synthesis and optical readout of striped metal rods with submicron features. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 522: 95-103.

Roy, S., Chen, X., Li, M-H., Peng, Y., Anariba, F., Gap, Z. 2009. Mass-Produced Nanogap Sensor Arrays for Ultrasensitive Detection of DNA. *JACS.* 131: 12211–12217.

Ronkainen, N.J., Halsall, H.B., Heineman, W.R. 2010. Electrochemical biosensors. *Chemical Society Reviews*. 39:1747-1763.

Ramsay, G. 1998. DNA chips: State of the art. *Nature Biotechnology*. 16(1):40-44.

Seidel, C. A. M. , Schulz, A., Sauer, M. H. M. 1996. Nucleobase-Specific quenching of fluorescent dyes. 1. Nucleobase One-Electron redox potentials and their correlation with static and dynamic quenching efficiencies. *J. Physical Chemistry.*100: 5541–5553.

Scannel, M. P. , Fenick, D. J., Yeh, S.-R., Falveg, D. E. 1997. Model studies of DNA photorepair: reduction potentials of thymine and cytosine cyclobutane dimers measured by fluorescence quenching. J. American Chemical Society. 119: 1971–1977

Sessolo, M., Rivnay, J., Bandiello, E., Malliaras, G.G.,Bolink, H.J. 2014. Ion-Selective organic electrochemical transistors. Advanced Materials. 28:4803-4807

Shinwari, M.W., Deen, J.M., Starikov, B.E., Cuniberti, G. 2010. Electrical conductance in biological molecules. Advanced Functional Molecules. 20:1865-1883.

Smith, P.A., Nordquist, C.D., Jackson, T.N., Mayer, T.S., Martin, B.R., Mbindyo, J., and Mallouk, T.E. 2000. Electric-field assisted assembly of metallic nanowires. *Applied Physics Letters.* 77:1399-1401

Song, H., Kim, Y., Jang, Y.H., Jeong, H., Reed, M.A., Lee, T. 2009. Observation of molecular orbital gating. *Nature* 462: 1039-1043.

Souteyrand, E., Cloarec, J.P., Martin, J.R., Wilson, C., Lawrance, I., Mikkelsen, S., Lawrence, M.F. 1997. Direct detection and hybridization of synthetic homo-oligomer DNA sequences by field effect. *Journal of Physical Chemistry B.* 101:2980-2985.

Souteyrand, E., Chen, C., Cloarec, J.P., Nesme, X., Simonet, P., Navarro, I., Martin, J.R. 2000. Comparison between electrochemical and optoelectrochemical impedance measurments for DNA detection. *Applied Biochemistry and Biotechnology.* 89:195-207.

Stahlmecke, B., Meyer zu Heringdorf F.J., Chlaru, L.İ, Horn, non Hoegen, M., Dumpich, G. 2006. Electromigration in self-organized single-crystalline silver nanowires. *Applied Physics Letters*. 88:053122.

Steel, A.B., Herne, T.M., Tarlov, M.J. 1998. Electrochemical quantitation of DNA immobilized on gold. *Analytical Chemistry.* 70:4670-4677.

Strachan, D. R. Smith, D. E., Johnston, D.E., Park, T.H., Therien, M.J., Bonnell, D.A., Johnson, A.T. 2005. Controlled fabrication of nanogaps in ambient environment for molecular electronics . *Applied Physics Letters.* 86:043109

Tao, N.J. 2006. Electron transport in molecular junctions. *Nature Nanotechnology*. 1:173-181.

Taton, T.A., Mirkin, C.A, Letsinger, R.L. 2000. Scanometric DNA array detection with nanoparticles probes. *Science* 289:1757-1760.

Tokonami, S., Shiigi, H., Nagaoka, T., 2008. Characterization of DNA sensing properties nanogapped array electrodes. *Journal of the Electrochemical Society*. 155:J105-J109.

Turner, A. 2013. Biosensors: then and now. *Trends in Biotechnology*. 31:119-120.

Trouwborst, M.L., van der Molen, S.J. van Wees, B.J. 2006. The role of Joule heating in the formation of nanogaps by electromigration. *Journal of Applied Physics*. 99: 114316.

Uran C, Unal E, Kizil R, Demir HV. 2009. On-chip integrated nanowire device platform with controllable nanogap for manipulation, capturing, and electrical characterization of nanoparticles. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics.* 15**:**1413-1419

Van Zalinge, H., Schiffrin, D.J., Bater, A.D., Haiss, W., Ulstrup, J., Nichols, R. 2006. Single-molecule conductance measurement of single-and double-stranded DNA oligonucleotides. ChemPysChem. 7:94-98.

Wang, J. Electrochemical nucleic acid biosensors. *Analytica Chimica Act*a. 469. 63-71.

Watanabe, H., Manabe, C., Shigematsu, T., Shimotani, K., Shimizu, M. 2001. Single molecule DNA device measured with triple-probe atomic force microscope. *Applied Physics Letters.* 79: 2462-2464.

Welch, K., Blom, T., Leifer, K., Stromme, M. 2011. Enabling measurements of low-conductance single molecules using gold nanoelectrodes. *Nanotechnology*. 22:125707.

Xu, B., Zhang, P., Li, X., Tao., N. 2004. Direct conductance measurement of single DNA molecules in aqueous solution. NanoLetters. 4:1105-1108.

Xu,M.S., Tsukamaoto, S., Ishida, S., Kitamura, M., Arakawa, Y., Endres, R.G., Shimoda, M. 2005. Conductance of single thiolated polyGC-polyGC DNA molecules. *Applied Physics Letters*. 87:083902.

Yu, Z.G., Song, X. 2011. Variable range hopping and electrical conductivity along the DNA double helix', *Phys. Rev. Lett*., 86:26.

Zikic, R., Kristiæ, P.S., Zhang, X.-G., Fuentes-Cabrera, M., Wells, J., Zhao, X. 2006. Characterization of the tunneling conductance across DNA bases. *Phys. Rev. E*, 74:011919.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Dr. Öğr. Üyesi RAMAZAN KIZIL
Proje No:	116E251
Proje Başlığı:	Nanotel Bazlı Nanoaralık Elektrotlarla Dna'Nın Öz Elektriksel İletkenliğinin Ölçülmesi
Proje Türü:	1001 - Araştırma
Proje Süresi:	24
Araştırmacılar:	
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	İSTANBUL TEKNİK Ü. KİMYA-METALURJİ F. KİMYA MÜHENDİSLİĞİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/06/2017 - 01/02/2020
Onaylanan Bütçe:	361644.0
Harcanan Bütçe:	344289.43
Öz:	TÜBİTAK 116E251 no'lu araştırma projesinde DNA'nın öz iletkenliği doğrudan Au-nanotel tabanlı nanoskopik nanoaralık üretilerek akım-gerilim ölçümleriyle belirlendi ve DNAda elektron iletim mekanizmasını anlamakta faydalı bilgiler elde edildi. DNA?nın doğrudan öz iletkenliğini ölçmek için nanometre mertebesinden birbirinden ayrık ?nanogap? elektrot çiftleri kullanılması ve bu elektrot çiftlerinin de kolay yoldan makroskopik ölçüm cihazlarına bağlanması gereklidir. Bu projede nanogap elektrotlar, Si-yonga üzerinde klasik optik litografi yöntemiyle hazırlanan birbirine paralel 50 adet mikroelektrot çiftleri baz alınarak hazırlanmıştır. Bu proje için özel 7-8 mikrometre uzunluğunda ve 250-300 nm çapında silindirik Au-Ag-Au nanoteller sabit akım ?galvanostatik? altında elektrokimyasal birikim yöntemiyle üretilmiş ve nanogap elektrot olarak görev yapmaları sağlanmıştır. Bu nanotellerin nanogap elektrotlara dönüştürülmesi için birinci basamakta teller elektrofluidik yöntemle AC alan altında yonga üstündeki mikroelektrot elektrotların arasına tek-tel formunda yerleştirilmiştir. İkinci basamakta yongaya elektrofluidik yoldan entegre edilen nanotellerde ince gümüş (Ag) bölge kimyasal aşındırma veya elektromigrasyon ile uzaklaştırılarak nanogap elektrotlar üretilmiştir. Bu iki basamaklı yaklaşımla birbirinden 6 mikrometre mesafede ayrılmış mikroelektrot çipleri artık elektrot arası mesafenin 50-200 nm seviyesine indirgendiği nanotel nanogap elektrotlara dönüştürülmüştür. Her iki ucu tiyol (SH) gurubu taşıyan DNA moleküllerini kovalent yoldan nanoteller üzerine bağlanmıştır. Nanotel üzerinde bulunan boşluk elektrofluidik yoldan 250 nm Au nanopartikül ile doldurularak DNA-AuNP-DNA jonksiyon/eklemin elektriksel karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu eklemin elektronik davranışı mikroçip baz elektrotların prob istasyonu üzerinde yarıiletken parametre analizörüne bağlanmasıyla femto-piko amper çözünürlüğünde incelenmiştir. Çift-sarmal DNA?da iletkenliğin tek-sarmalda olana göre orbitallerin ?-istiflenmesi nedeniyle iyileştiği, metal-molekül kontağın önemi ve kararlığı ve DNA?da yarı-iletken veya negatif diferansiyel rezistans gibi özel davranışlar gösterilmiştir. Bu projede DNA gibi biyolojik bakımdan önemli molekülün kendi öz iletkenlik özelliğinden yararlanarak çip üstünde tek ve çift sarmal formalarında I-V ölçümleri ile elektriksel yoldan saptanabileceğini gösterildi. Bunun için nanotel tabanlı nanoaralık elektrotlar hazırlandı ve DNA moleküler eklemin öz iletkenliği ve elektronik davranışı DC modunda ve düşük verevde I-V ölçümleriyle incelendi.
Anahtar Kelimeler:	Moleküler Elektronik, DNA, Nanoelektronik, Mezoskopik Fizik, Moleküler Eklem, Nanotel
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Evet

TÜBİTAK