Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi
Özel Sayı, S. 367-374, Ekim 2019
© Telif hakkı EJOSAT'a aittir
Araştırma Makalesi

www.ejosat.com ISSN:2148-2683

European Journal of Science and Technology
Special Issue, pp. 367-374, October 2019
Copyright © 2019 EJOSAT
Research Article

Polimeraz Zincir Tepkimesi İçin bir Sıcaklık Çevrimcisi Tasarımı

Mehmet Yüksekkaya[1*], Ayçanur Tekin[2], Merve Nil Yamandır[3]

[1] Başkent Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye (ORCID: 0000-0002-2665-5799)
[2] Başkent Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye (ORCID: 0000-0003-4814-8218)
[3] Başkent Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye (ORCID: 0000-0002-9794-0570)

(Bu yayın "International Congress on Human-Computer Interaction, Optimization and Robotic Applications (HORA) July 5-7, 2019, Urgup, Nevsehir, Turkey" kongresinde sözlü olarak sunulmuştur.)

(İlk Geliş Tarihi 01.08.2019 ve Kabul Tarihi 25.10.2019)

(**DOI:** 10.31590/ejosat.638334)

ATIF/REFERENCE: Yüksekkaya M., Tekin A. & Yamandır M. N. (2019). Polimeraz Zincir Tepkimesi İçin bir Sıcaklık Çevrimcisi Tasarımı. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi,* (Özel Sayı), 367-374.

Öz

DNA replikasyonu, çift sarmaldaki DNA'nın ana ipliklerinin ayrıldığı ve her birinin yeni bir iplik üretmek üzere kopyalandığı işlemdir. Gen çoğaltma, günümüzde gen analizinde en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Polimeraz Zincir Tepkimesi (PZT) gen bölütlerinin ilgili enzim varlığında, uygun sıcaklık değişimleri ile çoğaltılması tekniğidir. PZT, genetik tanı testlerinde ve yeni nesil gen dizileme teknolojilerinde kullanılmasıyla, genetik bilimin önemli basamağı olmuştur. PZT için DNA tüp haznelerinin sıcaklığını belli ayrık değerlerde (90°C,55°C,72°C) belli sürelerde otomatik olarak tutan sıcaklık çevrimcisi kullanılır.

Bu çalışmada, Polimeraz Zincir Reaksiyonunun ana elemanı olan bir sıcaklık çevrimcisi tasarlanmıştır. Sıcaklık çevrimcisi güç kaynağı, ısıtıcı - soğutucu malzeme, fan, sıcaklık ölçer, kontrol devresi, tüp haznesi ve hazne kutusundan oluşmaktadır.

Isıtma-soğutma işlemlerini gerçekleştirmek için Peltier eleman kullanılmıştır. Piyasadaki Peltier elemanlar araştırılmış ve tasarım için uygun olana karar verilmiştir. Sıcaklık ölçüm için uygun sensörler belirlenmiştir. Tüp haznesi için bilgisayar destekti tasarım yapılmış ancak prototip için torna tezgahında üretim yapılmıştır. Isı değişimini korumak için kapalı bir kutu satın alınmış ve tasarıma uyarlanmıştır.

Sıcaklık kontrolü için PID kontrol protokolü belirlenmiş ve tasarım gerçekleştirilmiştir. Kontrol devresinde mikrodenetleyici kontrolü için Arduino Uno, peltier elemanlara gelen akımın polaritesini değiştirmesi ve fan kontrolü için röleler ve kaynaktan gelen akımın uygulanma süresini kontrol etmek için bir anahtar bulunmaktadır.

PID kontrol algoritması sıcaklık çevrim sayısını girdi olarak alır ve PZT için gerekli sıcaklık değerlerini ve uygulama sürelerini belirler. Sıcaklık sensörü tüp haznesine en yakın konuma yerleştirilmiştir. Sıcaklık sensöründen gelen bilgi gerekli sıcaklık değeri ile kıyaslanır ve PID katsayısı ısıtma ya da soğutmanın uygulanma süresi cinsinden belirlenir ve bu süre boyunca anahtarın açık kalması sağlanır. Soğutma için peltierlere uygulanan akımının polaritesi değiştirilir ve soğutma için kullanılan fan çalıştırılır. Tüm kontrol algoritması Arduino Uno üzerinde tasarlanmıştır.

Tüm sistem 0.2 mL 'lik tüplerin bulunduğu kutu, ve 12V 6A'lik güç kaynağı ve kontrol devresinden oluşmaktadır. Tüm sistem 1200 TL (207 USD)'ye mal olmuştur. Döngüyü sağlayarak sıcaklık değişimlerinin meydana geldiği gözlenmiş ancak testler ve PID katsayılarının belirlenmesi devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: PZT, Polimeraz Zincir Tepkimesi, DNA Çoğaltılması, Gen Analizi, Sıcaklık Çevrimcisi, Sıcaklık Çevrimi

A Compact Thermocycler for Polymerase Chain Reaction

Abstract

DNA replication is the process whereby the main strands of DNA in the double helix are separated and each one is copied to produce a new strand. Nowadays, DNA replication is one of the most commonly used methods in gene analysis. Polymerase Chain Reaction

[*] Sorumlu Yazar: Başkent Universitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara, Turkey, ORCID: 0000-0002-2665-5799, mehmety@baskent.edu.tr

(PCR) is the technique of replication of gene segmentation using relevant enzymes under cycling temperature values. Thermocycler in PCR is used to keep the temperature of the DNA tubes at certain discrete values (90°C, 55°C and 72°C) for a certain period.

In this study, a thermocycler which is the main element of PCR was designed. The thermocycler consists of a power supply, heater-cooler element, fan, temperature meter, control circuit, tube chamber and chamber box.

Peltier element was used for heating-cooling processes. Peltier elements on the market were researched and appropriate one was decided. Suitable sensor for temperature measurement was identified. The tube chamber is an aluminum container for microtubes. It was designed using a computer-aided design software however the production was made using lathe process on an aluminum block for a prototype. A heat insulation box is modified for the tube chambers.

For temperature control a PID control algorithm was determined and designed. The control circuit has Arduino Uno for microcontroller control, relays for changing the polarity of the current flow through the Peltier elements and the control of the fan, and a switch to control the application time of the current from the source.

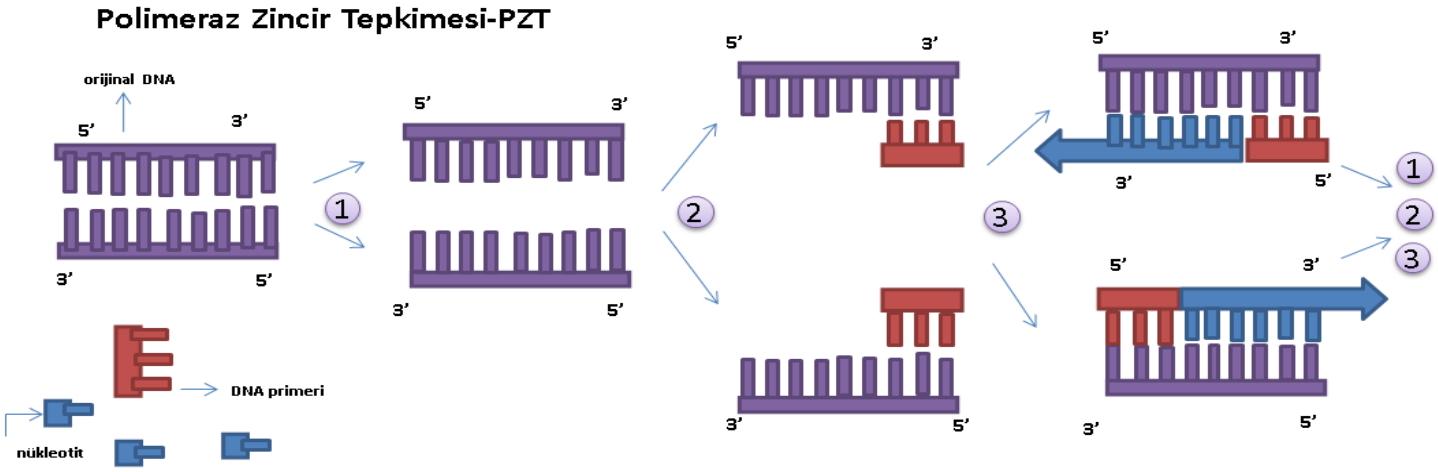
The PID control algorithm takes the number of temperature cycles as input and determines the required temperature values and its application time for the PCR. The temperature sensor was located to the closest position to the tube chamber. The information from the temperature sensor is compared with the required temperature value and the PID coefficient is determined in terms of the application time of the heating or cooling, during this time the switch remains open. For cooling the polarity of the current applied to the Peltiers is changed and the fan is started to cool. All control algorithm was designed on Arduino Uno.

The whole system consists of a box for the chamber for 0.2 mL tubes, a 12V 6A power supply and control circuit. It costs 207 USD. It has been observed that temperature changes were occurred for providing the temperature cycles, but tests and determination of PID coefficients are continuing.

Keywords: *PCR, Polymerase Chain Reaction, DNA Amplification, Gene Analysis, Thermocycler, Thermal Cycle*

1. Giriş

DNA çoğaltma, tekrar eden ısı döngüsünde iki oligonüklotid primerin DNA polieraz enzimi yardımıyla ayrılma, uzama ve bağlanma evrelerinin gerçekleşmesiyle eşlenmesi işlemidir (Saiki, 1990). DNA çoğaltma gen analizlerinde, kromozomlardaki bozuklukların analizinde, patojen saptanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Günel, 2007). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZT), Kary Mullis tarafından 1980'lerde DNA'nın eşlenmesi için geliştirilen bir yöntemdir (Pazdernik ve Clark, 2013). PZT çalışmalarında, kalıp DNA molekülü, primerler, nükleotitler ve DNA polimeraz enziminin varlığında gerçekleşir. DNA polimeraz enzimi, eşlenmiş DNA'yı oluşturmak için ayrı ayrı nükleotitleri birbirine bağlar. Nükleotitler (Adenin(A), Guanin(G), Sitozin(S), Timin(T)), PZT çalışmasının yapı taşlarıdır. Primerler eşlenmiş DNA'nın karakterini belirler ve uzama noktası görevi görür(Garibyan ve Avashia, 2014).Polimeraz zincir tepkimesi sıcaklık döngüsü (ayrılma 95°C'de 1-2dk, bağlanma 50° C-70° C'de ve uzama 72° C) beraberinde gerçekleşmektedir (Şekil 1). (Heid ve arkadaşları, 1996).



Şekil1 Polimeraz Zincir Tepkimesi Döngü Şeması-1. basamakta DNA iplikçiklerinin 94-96°C'de ayrılması, 2.basamakta DNA primerlerinin 50-70°C'de iplikçiklere bağlanması ve 3. basamakta polimeraz enzimi varlığında 72°C'de nükleotidler primerin uzamasını sağlar.

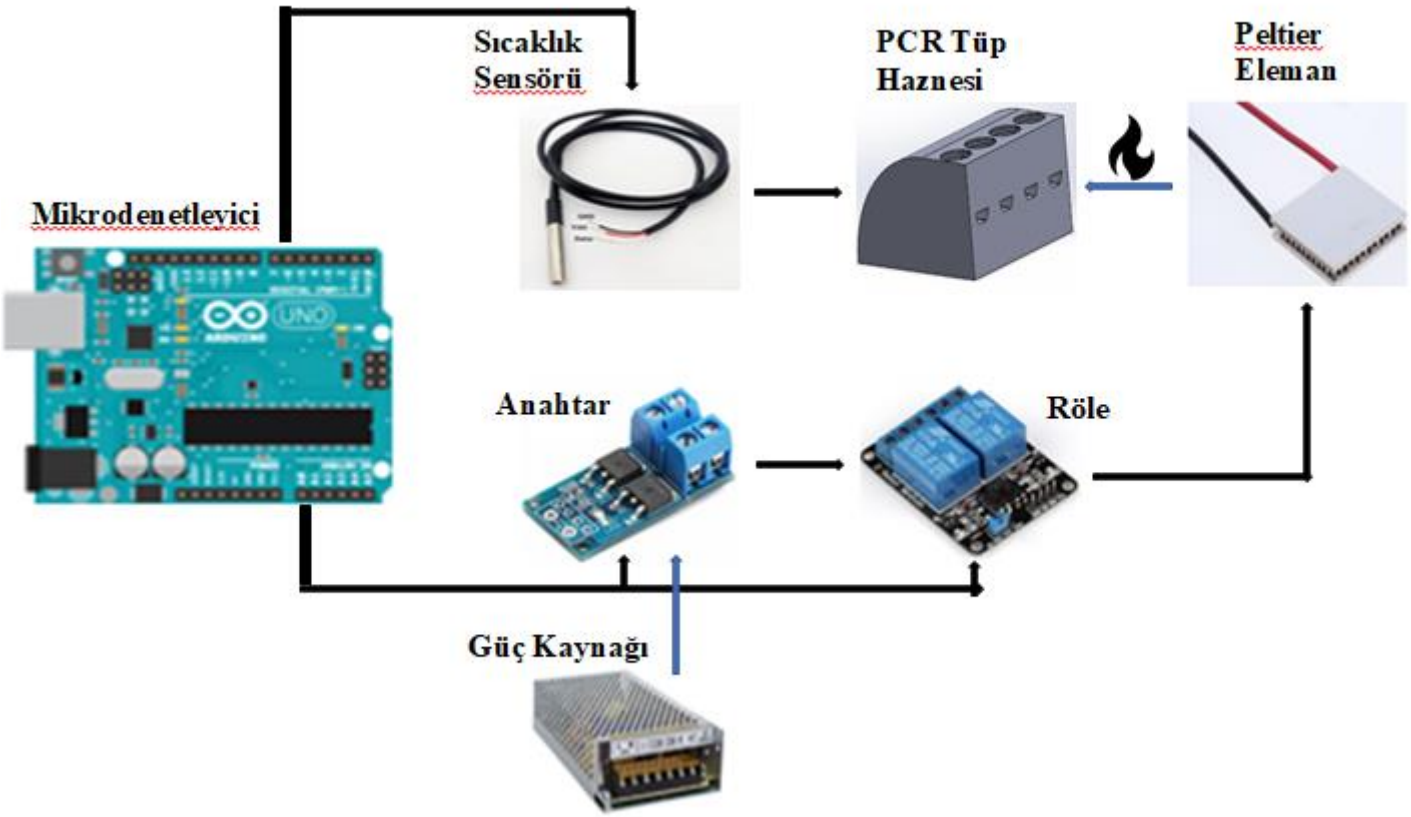
Ticari PZT cihazları tipik olarak, bilgisayar kontrollü bir sıcaklık çevrimcisi ve birkaç reaksiyon odasından oluşur. (Jyh Jian Chen, Hsiang Hsieh, 2016) 1980'lerde sıcaklık döngü adımları (ayrılma, bağlanma ve uzama), farklı sıcaklıklarda ayarlanmış üç büyük su banyosu içinde el ile gerçekleştirilmiştir. 1987'de, ilk ticari sıcaklık döngü cihazı olan Perkin Elmer Cetus'un TC1 DNA Sıcaklık Çevrimcisi, metal blok kullanarak numunelerin ısıtılmasını ve soğutulmasını programlayabilme özelliğine sahipti. (Tan, 2017) 1988 yılında ısıya dayanıklı DNA polimeraz enziminin bulunması ile her döngüde yeniden enzim eklenmesine gerek kalmadı. Döngü tekrar sürelerinin kısalmasıyla birlikte PZT uygulamalarının da önü açıldı. PZT sıcaklık çevrimcileri 0-100°C arasındaki sıcaklık değerlerini

0.1 °C hassasiyet ile sağlayabilmektedir(Anonim, 2016). Sıcaklık çevrimcisinde ısıtma-soğutma işlemlerini gerçekleştirmek için peltier eleman kullanılır (Chen ve Hsieh, 2016).

2. Materyal ve Metot

2.1. Tasarım

Sıcaklık çevrimcisi tasarımı güç kaynağı, ısıtıcı - soğutucu eleman, fan, sıcaklık ölçer, kontrol devresi, tüp haznesi ve hazne kutusundan oluşmaktadır. (Şekil 2)



Şekil 2 Genel Tasarım

Isıtıcı-soğutucu elemanın kontrolü kontrol devresi ile sağlanır. Kontrol devresinde mikrodenetleyici olarak, kullanım kolaylığından dolayı Arduino Uno tercih edilmiştir. Arduino Uno ile anahtar, röle, sıcaklık sensörü ve fan kontrol edilir. Kontrol devresi ile ısıtıcı-soğutucu elemanın istenilen sürelerde istenilen sıcaklıklara ulaşması sağlanır. Isıtıcı-soğutucu elemanlara gelen akımın polaritesini değiştirmesi ve fan kontrolü için röleler ve kaynaktan gelen akımın uygulanma süresini kontrol etmek için bir anahtar bulunmaktadır.

Ulaşılan sıcaklıklar bir sıcaklık sensörü ile anlık olarak ekrandan okunur. Gerektiğinde fan yardımı ile soğutma yine mikrodenetleyici kontrolü ile sağlanır. Tüpleri ısıtmak için kullanılacak bir hazneye ihtiyaç vardır. Hazne tasarımı 3B Bilgisayar Destekli Tasarım (CAD-Solidworks) programıyla tasarlanmıştır. Hazne tasarımında haznenin malzemesi, ısıtıcı-soğutucu elemanın yuvası, tölerans değerleri ve kullanılacak mikrotüplerin boşlukları dikkate alınmıştır.

2.2. Elemanlar

2.2.1. Peltier Eleman

Isıtma-soğutma işlemlerini gerçekleştirmek için peltier eleman kullanılmıştır. Termoelektrik elemanın yapısı genellikle iki seramik plaka arasına sıkıştırılmış ve seri olarak bağlanmış n ve p tipi yarıiletken termoelektrik malzemeden oluşur. Bu elemanlar, üzerine doğru bir elektrik akım uygulandığında, bir yüzeyden diğerine ısı taşırlar. Taşınan ısı ile plakalar arasında bir sıcaklık farkı oluşur. Peltier elemanlar, akımla çalışan cihazlardır. İstenen sıcaklık parametreleri peltier elemanın kontrollü bir akım kaynağı ile sürülmesiyle oluşturulur.

Tablo 1 Peltier Seçim Tablosu

Numara - KOD	Boyut (mm)	Operating Temp.(°C)	Max. Akım (A)

1487-1222-ND	43,9 x 39,9 x 3,6	175	6
1487-1175-ND	43,9 x 39,9 x 4,1	175	3,8
926-1278-ND	43,9 x 39,9 x 3,6	175	6
1681-1075-ND	44,7 x 40,0 x 3,8	130	5,6

Piyasadaki peltier elemanlar araştırılmış (Tablo-1) ve tasarım için uygun olana karar verilmiştir. Peltier eleman PZT standartlarında en yüksek sıcaklık değeri olan sıcaklığı sağlayacak ve bu sıcaklığa en hızlı biçimde çıkabilmesi için yüksek ampere dayanabilecek şekilde aynı zamanda dögüdeki en yüksek sıcaklık değerini aşacak sıcaklığa sahip olacak şekilde seçilmiştir. Peltier eleman Laird Tecnologies isimli firmadan 2 adet temin edilmiştir. 926-1278-ND kodlu Peltier eleman 6 ampere kadar akım dayanıklılığına ve 175°C'ye kadar ısıtma özelliğine sahiptir.

2.2.2. Anahtar

Akım yönü değiştirilirken, akımın rampa şeklinde değişmemesi için anahtar kullanılır. Anahtar açıkken gerilim 0, kapalıyken akım 0'dır. Güç kaynağından gelen akımın Peltier elemanın üzerine iletilme süresini kontrol etmek ve akımın dalgalanmasını önlemek amacı ile anahtar kullanılmıştır.

2.2.3. Röle

Röle bobininin uçlarına voltaj verildiğinde bobin üzerinden geçen akım manyetik alan oluşturur. Yay manyetik alan tarafından çekilerek kontaklar aynı anda konum değiştirir ve açık kontaklar kapanır, kapalı kontaklar açılır. Bobine enerji uygulandığı süre boyunca kontaklar almış olduğu konumlarını korur. Peltier elemanın polaritesinin değiştirilmesi ve fanın çalıştırılması için role kullanılmıştır.

2.2.4 Sıcaklık Sensörü

Anlık olarak sıcaklık değerlerinin okunması için sıcaklık sensörü tüp haznesine en yakın konuma yerleştirilmiştir. Sıcaklık sensörü olarak maxim integrated firmasının ürettiği DS18B20 programlanabilir çözünürlükte dijital çıkışlı sıcaklık sensörü tercih edilmiştir. Sensörün tercih sebebi çalışma aralığının -55 °C ile +125 °C arasında olması ve Arduino Uno ile programlanabilir olmasıdır.

2.2.5. Fan

PZT için gereken 3 sıcaklık değerine ulaşılabilmesi için haznenin belirli zamanlarda soğutulması gerekmektedir. Soğutma işlemi için fan tercih edilmiştir. Fan olarak Superred markasının 12V DC güç ile çalışan fanı tercih edilmiştir. Tercih edilen fan tüp haznesinin altına konumlandırılarak, röle ile kontrol edilir.

2.2.6. Mikrodenetleyici

Mikrodenetleyici sistemin kontrolü için kullanılmaktadır. Arduino Uno Atmel Atmega 328P mikrodenetleyicisine sahip mikrodenetleyici karttır. Tasarımda kullanım kolaylığı, programlama kolaylığı sebebi ile kontrol devresinde mikrodenetleyici olarak Arduino Uno tercih edimiştir.

2.2.7. Tüp Haznesi

Tüpleri ısıtmak için kullanılacak bir hazneye ihtiyaç vardır. Haznenin tasarımı 3B Bilgisayar Destekli Tasarım(CAD-Solidworks) programıyla tasarlanmıştır Hazne tasarımında haznenin malzemesi belirlenmiş, peltier elemanın yuvası mikrotüplerin alt kısmını tümüyle kapsayacak şekilde tasarlanmış, kullanılacak mikrotüplerin boşlukları dikkate alınmıştır. Haznenin prototipi daha sonra torna tezgahında üretilmiştir. Isının kontrol edilmesi için kapalı bir kutu alınmış ve tasarıma entegre edilmiştir.

2.2.8. Güç Kaynağı.

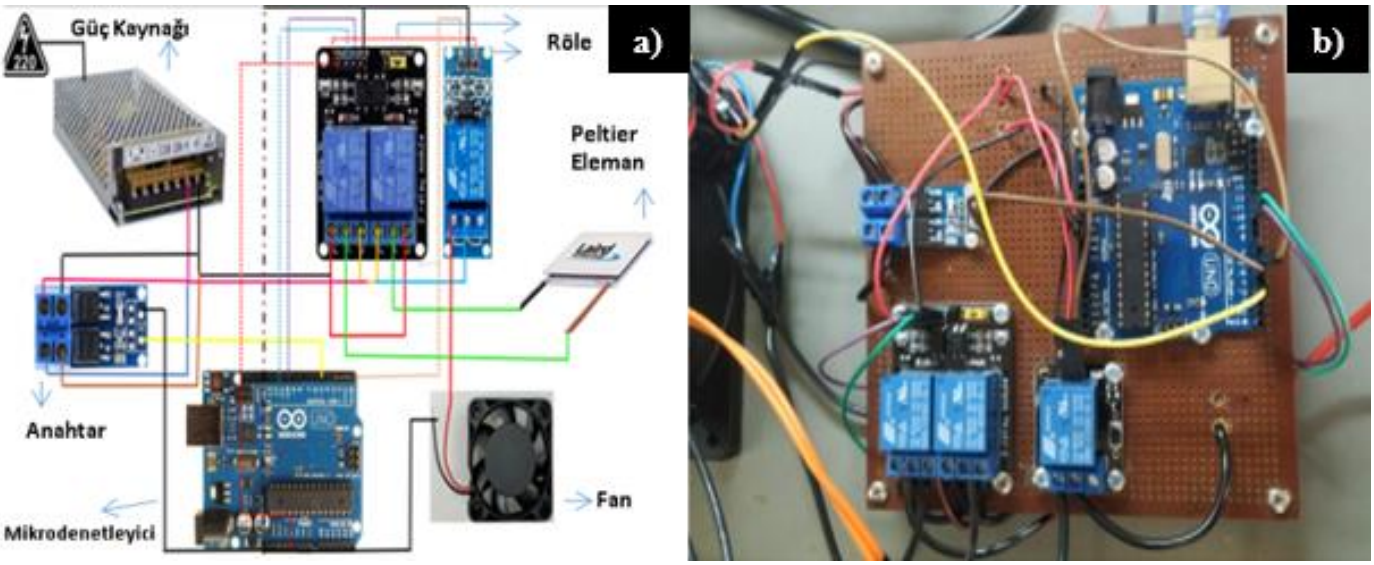
Isıtıcı-soğutucu eleman olan peltier eleman akımla çalıştığından dolayı sistemde bir güç kaynağına ihtiyaç duyulmuştur. Sıcaklıklara ulaşılma süresini kısaltmak için akımı yüksek olan bir güç kaynağı tercih edilmiştir. Seçilen güç kaynağı Mervesan firmasına ait 12V ve 6A metal kasa switch mode adaptördür.

2.3. Montaj

Sistemin tasarımının çalışabilmesi için 2.2'de belirtilen malzemeler temin edilmiştir. Bu malzemeler dışında:

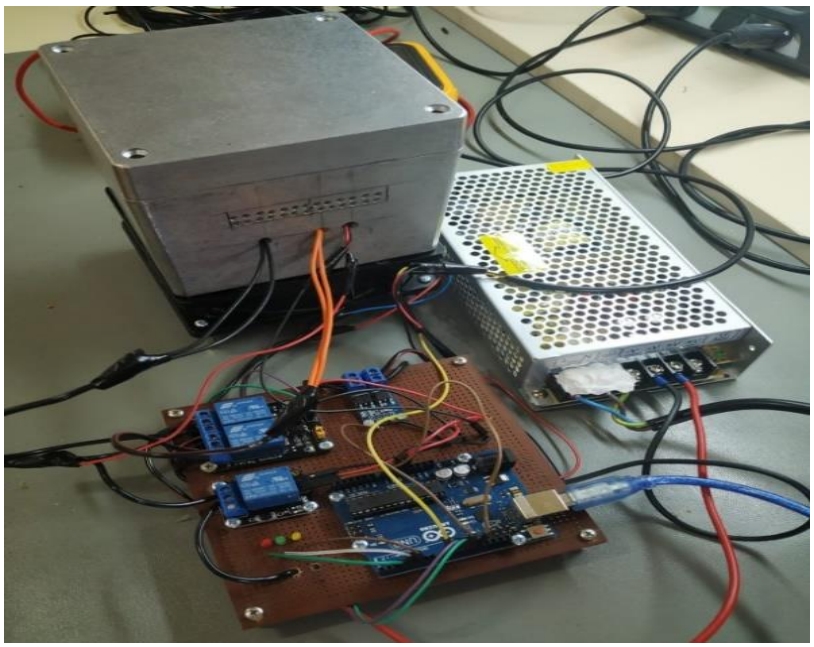
- Alüminyum kutu (2 adet)-12x12x10 cm^3, 8x8x5cm^3
- Alüminyum küp (1 adet)- 39x43x25 mm^3
- PZT Tüp(3 adet)
- Yalıtım malzemesi- Strafor temin edilmiştir.

Sistem tasarımının gerçekleştirilebilmesi ve kapalı sistem olarak çalışabilmesi için iki adet alüminyum kutunun iç içe girerek ısının en verimli şekilde korunması hedeflenmiştir. Alüminyum küp peltier elemanın boyutlarına göre torna tezgahında kestirilip mikrotüp ve sıcaklık sensör boşlukları açılmıştır. Fanın soğutmayı gerçekleştirebilmesi için büyük ve küçük alüminyum kutulara fan delikleri açılmıştır. Gerekli kablo boşlukları iki kutuya da aynı hizada açılmıştır. Tüp haznesi ile peltier eleman ısı kaybı olmaması için sabitlenmiştir. Tüp haznesi küçük kutuya konulmuştur ve büyük kutu ile küçük kutu arasına yalıtım yapılmıştır.



Şekil 3 a) Kontrol Kartı Tasarım, b) Kontrol Kartı Devresi

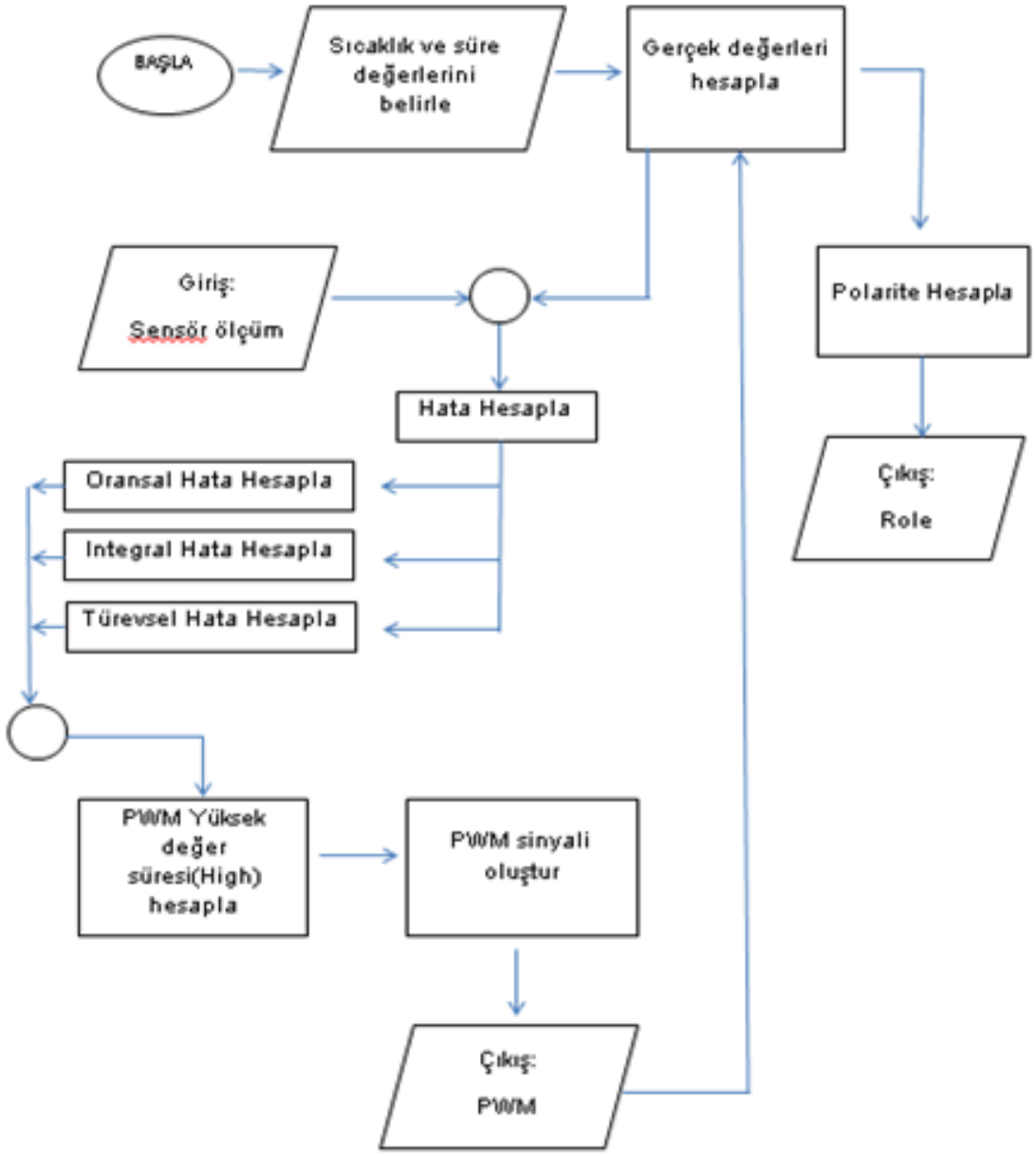
Bağlantılar oluşturulduktan sonra kontrol kartı tasarımı gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan devre şemasına göre kart üzerinde tasarım gerçeklenmiş ve gerekli bağlantılar yapılmıştır (Şekil 3). Kart kapalı sisteme entegre edilerek sıcaklık çevrimcisi prototipi Şekil 4 'teki gibi oluşturulmuştur.



Şekil 4 Sıcaklık Çevrimcisi Prototipi

2.4. Algoritma

Sıcaklık döngüsünün sağlanması için algoritması oluşturuldu.(Şekil 5) PZT için gerekli sıcaklık değerleri (ayrılma 95°C, bağlanma 50-70°C, uzama 72°C) ve süresi tanımlandı. Anlık olarak olması gereken sıcaklık değerleri hesaplandı. Girdi olarak sıcaklık sensöründen alınan sıcaklık değeri, hesaplanan sıcaklık değeri ile karşılaştırılarak hata hesaplandı. Hata minimize edilene kadar karşılaştırma sürdürüldü. Hatanın minimize edilmesiyle birlikte çıktı olarak PWM yüksek değer süresi elde edildi ve PWM sinyali oluşturuldu. PWM sinyali girdi olarak gerçek değer ile kıyaslanarak polarite hesabı gerçekleştirildi. Polarite çıktısına göre role kontrolü sağlandı.



Şekil 5 Sıcaklık Çevrimcisi Algoritması

2.5. PID Katsayılarının Belirlenmesi

PID (Proportional Integral Derivative) denetleyici, endüstriyel kontrol sistemlerinde yaygın olarak kullanılan bir kesirli geri besleme yöntemidir. PID denetleyiciler ile istenilen sıcaklık değerlerine ulaşmak için sıcaklık kontrolü yapılabilir. PID kontrol algoritması sıcaklık çevrim sayısını girdi olarak alır ve PZT için gerekli sıcaklık değerlerini ve uygulama sürelerini belirler. Kapalı sistemdeki sıcaklık sensöründen gelen bilgi gerekli sıcaklık değeri ile kıyaslanır ve PID katsayısı ısıtma ya da soğutmanın uygulanma süresi cinsinden belirlenir. Sistem için PID katsayıların belirlenmesi halen devam etmektedir (Bansal ve arkadaşları, 2012).

3. Testler

Peltier elemanların metal plakayı ısıtma hızının ölçülmesi için yapılan ilk deneyde paralel olarak bağlanmış iki peltiere güç kaynağından sabit 2.5A verilmiş ve sıcaklık değişimi gözlenmiştir. Güç kaynağından uygulanan 2,5A'lik akım, peltier elemanların iç dirençlerinin artmasından dolayı sabit tutulamadı. Zamanla azalan akım değeri peltier elemanlardaki sıcaklık artış değerinde azalmaya sebep oldu. Elde edilen sıcaklık değerleri tablo 2'de görülmektedir.

Kullanılan ilk peltier elemanlar ile maksimum 88.50°C 'ye ulaşılabildi. Peltierin veri dosyasında belirtilen maksimum çıkabileceği sıcaklık değeri 90°C verilmiştir. Bu dereceye ulaşamadan peltier elemanlardan biri yandı.

Tablo 2 İlk Deney Sonuçları

Sıcaklık Ust (°C)	Sıcaklık Alt (°C)	Süre (dk)	Akım (A)
35	28	1	2,5
51	30	5	2,10
72	38	10	1,99
84	42	15	1,94
88.50	46	20	1,92

Kapalı sistemde gerçekleştirilen ikinci deneyde güç kaynağından sabit olarak peltier başına 2A 'lik akım uygulandı ve sıcaklık sensörü ile anlık okuma yapıldı. Yapılan deneyde 6 dk içerisinde istenilen sıcaklık değeri(100°C)'ne ulaşıldı. Maksimum sıcaklığa çıkarken herhangi bir problem yaşanmadı. Düşürülmek istenen sıcaklığa istenilen sürede ulaşılamadı. Deney ölçüm sonuçları tablo 3'de görülmektedir.

Tablo 3 İkinci Deney Sonuçları

Sıcaklık (°C)	Süre(sn)
24	0
31,44	60
45,56	120
59,56	180
73,12	240
86,31	300
100,12	360

Sistemin ulaştığı maksimum sıcaklık değeri 100°C'nin üzerindedir. Sistem 100°C'ye ulaştıktan sonra soğutma için fan devreye girdi ve sistem soğutulmaya başlandı. Düşürülmek istenen sıcaklığa istenilen sürede ulaşılamadı. Başlıca sebeplerinin:

- Kullanılan fanın sistemi soğutmada yetersiz kalması
- Kutunun boyutları hava sirkülasyonuna elverişli olmadığı için yeterli soğutma gerçekleştirilememesi.
- İçteki kutu ile tüp haznesi arasında yeterli yalıtım sağlanamaması olduğuna karar verildi.

4. Sonuç

Polimeraz zincir tepkimesi, gen çoğaltmak için uygulanan tepkimelere verilen ortak bir isimdir. Tepkime, ilgili enzim varlığında, oluşturulan uygun sıcaklık koşulları ile birlikte bir döngüden oluşmaktadır.

Bu çalışma; PZT'de uygun sıcaklık koşullarını otomatik olarak sağlayan sıcaklık çevrimcisi tasarımıdır. Sıcaklık çevrimcisi tasarımı; sıcaklık değişiminin akıllı kontrolünü sağlayan ısıtıcı-soğutucu kontrol devresi tasarımı, tüp haznesi tasarımı ve kontrol kartı tasarımı aşamalarından oluşmaktadır.

Polimeraz Zincir Tepkimesi(PZT) gen analizinde önem arz eden ve yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. PZT'nin gerçekleşmesi için gerekli olan temel eleman sıcaklık çevrimcisidir. PZT sıcaklık çevrimcisinin yerli bir üretimi bulunmamaktadır. Bu proje kapsamında da bir sıcaklık çevrimcisi tasarımı yapılarak, PZT ile ilgili projelerin ve çalışmaların ülkemizde önünün açılması hedeflenmektedir.

Bu çalışmada literatür araştırması sonucunda elde edilen bilgiler doğrultusunda gerekli devre elemanları temin edilmiş, genel bir tasarım oluşturulmuş, mikrodenetleyici(Arduino uno) ile sıcaklık kontrolü, PID kullanılarak optimize edilmiştir. Tüp haznesinin tasarımı 3B bilgisayar destekli yazılım ile gerçekleştirilmiştir. Devre elemanlarıyla düzenek kurulmuş, ısıtma ve soğutma deneyleri gerçekleştirilmiştir. İlk deneyde ulaşılması hedeflenen sıcaklığa (90°C) yaklaşılmıştır. Elde edilen sıcaklık değişimi istenilen hızda

gerçekleşmemiştir ve peltier elemanlardan biri sıcaklık 90°C'ye yaklaşırken yanmıştır. Daha kısa sürede yüksek sıcaklıklara (90°C ve üzeri) çıkmak hedeflendiğinden başka bir peltier eleman seçimi yapılmıştır. Çalışmanın devamında tüp haznesinin tasarım malzemesi belirlenerek, oluşturulan tasarım gerçeklenmiş ve montajı yapılmıştır. Sonraki aşamada, oluşturulan tüp haznesi ile peltier eleman birleştirilerek iki kutulu kapalı bir sistem oluşturulmuştur. Sıcaklık değişimi için yapılan ikinci deneyde kapalı sistemde 100°C'ye ulaşılmıştır ancak soğutmada istenilen hız yakalanamamıştır. Bunun için çeşitli çözüm yollarına gidilmiştir. Kapalı sistemin montajı yapıldıktan sonra kontrol kartı tasarımı gerçekleştirilmiştir. Devre elemanları gerekli bağlantılar ile karta lehimleme ile sabitlenmiştir. Tüm sistem tamamlanmıştır. Sıcaklık çevrimcisi prototipi oluşturulup, sıcaklık değişim testleri gerçekleştirilmiştir. Testler sonucunda sıcaklık değişimleri gözlenmiştir.

Tüm sistem 0.2 mL 'lik tüplerin bulunduğu kutu ve 12V 6A'lik güç kaynağı ve kontrol devresinden oluşmaktadır. Tüm sistem 1200 TL (211 USD)'ye mal olmuştur. Döngüyü sağlayarak sıcaklık değişimlerinin meydana geldiği gözlenmiş ancak testler ve PID katsayılarının belirlenmesi devam etmektedir.

5. Teşekkürler

Bu çalışmada tasarım ve uygulama ile ilgili fikirleri ile yardımcı olan, Başkent Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Emir Baki Denkbaş'a ve Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Kurtuldu'ya, sistemi oluşturma kısmında bize yardımcı olan okulumuzun makine mühendisliği laboratuvar sorumlusu İsmail Karabacak'a teşekkür ederiz.

Kaynakça

Saiki, R.K. (1990). PCR Protocols (s. 13-20). Academic Press, Inc. Elsevier Inc.

Günel, T. (2007). QUANTITATIVE ANALYSIS OF GENE EXPRESSION "REAL-TIME PCR": SCIENTIFIC LETTER. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 763-767.

Pazdernik, N.J.& Clark, D.P, (2013). Polymerase Chain Reaction. Molecular Biology (s. 168-198). Elsevier Inc.

Garibyan, L. & Avashia, N,(2014). Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR).

Heid, C.A. & Stevens, J. & Livak, K.J. (1996). Real Time Quantitative PCR.

Technical Specifications for PCR Thermal cycler. (2016). www.cmfri.org.in: http://www.cmfri.org.in/uploads/tender/5-11-2016.pdf

Chen J.J. & Hsieh, H. (2016). Using an IR lamp to perform DNA amplifications on an oscillatory thermocycler. Applied Thermal Engineering (s. 1-12).

Bansal, H.O. & Sharma, R. & Shreeraman, P. R (2012). PID Controller Tuning Techniques: A Review.