

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

ÜNİVERSİTE VE ÜZERİ SEVİYESİ SEVİYESİ FİKİR

KATEGORİSİ

TAKIM ADI

SANİTAS

PROJE ADI

Erken Embriyonik Dönemde Genetik Hastalık Teşhisi İçin Sensör
Tasarımı

BAŞVURU ID

#464059

İçindekiler

Proje Özeti	3
Problem/Sorun	3
Çözüm	4
Yöntem	5
4.1. NIPT Yöntemi	5
4.2. Biyosensörler	6
4.3. Plakaların Tasarımı ve Üretimi	7
4.4. Cihaz Tasarımı ve Donanımı	7
4.5. Cihaz Algoritması	10
4.6. Verilerin İşlenmesi	11
Yenilikçi (İnovatif) Yönü	12
Uygulanabilirlik	12
Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması	13
7.1. Maliyet Tablosu ve Malzeme Listesi	13
7.2. Dönemsel Harcama Planı	14
7.3. Zaman Planlaması	14
Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar)	15
Riskler	15
Kaynaklar	16

TEKNOFEST
HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

1. Proje Özeti

Genetik hastalıklar kromozomal bozuklukla ya da mutasyonlarla ortaya çıkan, nesilden nesile aktarıldığı gibi sonradan da ortaya çıkabilen, çoğu zaman da organizmanın tüm hayatı boyunca etkisini sürdüren hastalık grubudur. Popülasyonda diğer hastalıklar kadar sık görülmemekle beraber fenotipik etkileri daha ağır ve hayati tehlike oluşturan etkilerdir. Genetik hastalıkların çoğunun embriyonik dönemde teşhisi mümkün değildir. Hasta olan çoğu fetüs doğduktan sonra teşhis konmakta ve hastalık önlenemez duruma gelmektedir. Var olan genetik testler ise invaziv yöntemlerdir; bu durum düşük tehlikesini artırmakta, bebeğe ya da anneye zarar verebilmektedir. Günümüzde ise invaziv olmayan testler ise yüksek fiyat sebebiyle herkesin ulaşabileceği konumda değildir.

Tasarlamış olduğumuz proje fikrimizde; invaziv olmayan yöntemler kullanarak teknoloji tabanlı bir sensör aracılığıyla fetüste bulunan genetik hastalıkların erken evrede tespiti hedeflenmektedir. Anne kanında serbest şekilde dolaşan embriyonik hücre kalıntısı ya da proteinlerin, teknoloji tabanlı sensörle tespiti üzerine odakladığımız projemizde sadece anneden alınan kanla genetik hastalık tespiti mümkün olmaktadır. Tek cihazda 4 farklı hastalığın teşhisinin sağlanması amaçlanmaktadır. Bunun için gerekli literatür taramaları ve veri tabanı incelemeleri yapılarak seçilen hastalıklara ait anormal proteinler spektrofotometre mantığı kullanılarak tespit edilecektir. Proje; var olan çalışmalardan farklı olarak anne ve bebeği için herhangi bir risk teşkil etmemektedir. Anne kan dolaşımına katılan embriyonik hücre kalıntısı ya da proteinlerini kullanmakta ve daha kısa sürede yüksek doğruluklu sonuç vermektedir.

2. Problem/Sorun

Genetik hastalıklar normal DNA sekansında meydana gelen değişiklikler sonucu ortaya çıkan, tek ya da birden fazla genin etkili olabileceği, çevresel faktörlerden de etkilenecek fenotipte etkisini gösteren ve kalıtımla nesilden nesile aktarılabilen gibi yeni mutasyonlarla da ortaya çıkan hastalık grubudur. Tek gen, çoklu genler ya da kromozomal bozukluklar genetik hastalıklara sebep olabilir. Her hastalığın popülasyonda görülme olasılığı da farklılık göstermektedir. Projede araştırılan kistik fibröz (cystic fibrosis), Huntington hastalığı, Tay-Sachs, orak hücreli anemi (sickle cell anemia) gibi hastalıklar popülasyonda sırasıyla 1:3200, 1:10000, 1:3500, 1:500 oranlarında görülmektedir. Bu dört farklı hastalığa dair bilgiler Tablo 1'de gösterilmiştir. (www.mayoclinics.com; Robbin's Basic Pathology, 10th Edition, Erişim tarihi: 12.03.2022)

Hamilelik süreci içerisinde fetüste bulunan genetik hastalıkların tanısını koymak için belli başlı testler yapılmaktadır. Bunların başında 2'li ve 3'lü testler gelmektedir. Bu testler anne karnındaki amniyon sıvısından alınarak kromozomal bozuklukların tayininde kullanılır. İnvaziv bir test yöntemi olan 2'li ve 3'lü testlerde bazı durumlarda bebek ya da anne zarar görebilmekte ya da düşük riski artmaktadır. İnvaziv olmayan testlerde ise NIPT (Non-invasive prenatal testing) son zamanlarda popülerlik kazanmıştır. NIPT'te kromozomal hastalıkların araştırılması daha yaygındır. Tek gen mutasyonunun (Single gene disorders) sebep olduğu hastalıklarda ise NIPT ile test PCR+NGS olarak mümkün olmaktadır. Tek genlerin sebep olduğu bu hastalıkların sekanslama ile tespiti test fiyatlarını ciddi oranda artırmakta ve herkesin ulaşabileceği test olma ihtimalini düşürmektedir. Bu nedenle gebelik döneminde kadınlar genetik bebekteki genetik hastalıkları erken evrede öğrenememektedir. Ayrıca bu çalışmada incelenen hastalık grupları bebek doğduktan birkaç ay ila birkaç sene arasında belirti göstermeye başlar; bu ise semptomları geciktirici ve hayat standartlarını yükseltici uygulamaların kullanılmasını engellemekte ve hastalığı daha hızlı

ilerletmektedir. Tasarladığımız proje ise ekonomik kısıtlama getirmeden ve bebek ile anneye zarar vermeden tek gen hastalıklarının tanısını sağlamaktadır (Skotchman E. ve ark., 2020; Verhoef T. I. ve ark., 2016).

Hastalık Adı	Görülme Sıklığı	Genetik	Tanı Konma Zamanı	Tedavi	Anormal Protein
Kistik Fibröz	1:3200	Otozomal resesif	Doğumdan sonra 2-4 hafta	Yok	CFTR
Tay-Sachs	1:3500	Otozomal resesif	Doğumdan sonra 3-6 ay	Yok	Hexosaminidase
Orak Hücreli Anemi	1:500	Otozomal resesif	Doğumdan sonra 6 ay	Yok	Hemoglobin
Huntington Hastalığı	1:10,000	Otozomal dominant	Doğumdan sonra 3-5 yıl	Yok	HTT geni ürünü

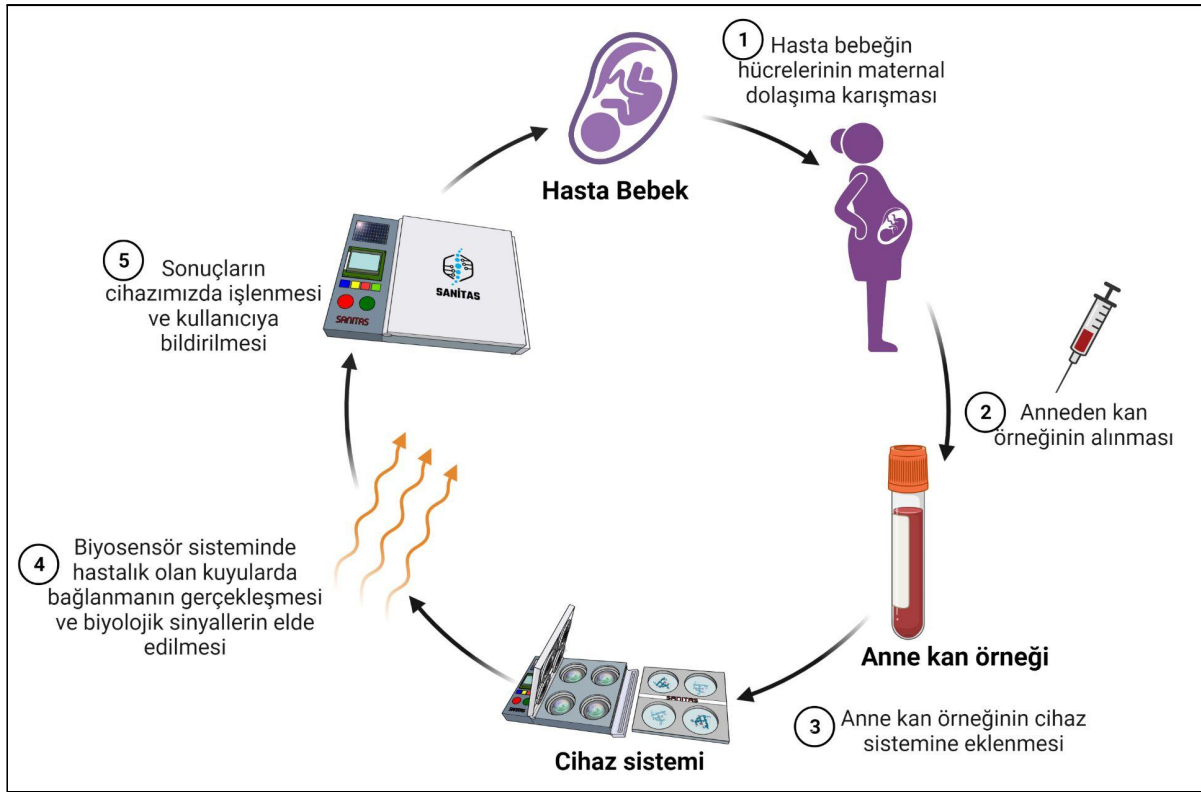
Tablo 1.: Projede incelenen 4 farklı genetik hastalığın genel özellikleri (www.mayoclinics.com)

3. Çözüm

İnvaziv olmayan yöntemlerin kullanımı hastanın ve hastalığın seyri açısından pek çok yönden daha avantajlı olduğu için son yıllarda bilim dünyası tarafından odak noktasına gelmiştir. Özellikle kandaki hastalıklı dokudan gelen hücre, hücre artığı ya da kalıtım materyalinin tespiti çok kısa sürede doğruluk oranı yüksek ve ekonomik olarak avantajlı test imkanı sağlamaktadır. Bu çalışmada da anne kanında serbest olarak dolaşan fetüse ait hücre parçaları ve reseptör/protein yapıları moleküllerin biyosensör aracılığı ile tespiti üzerine bir tasarım yapılmıştır.

Trophoblast olarak adlandırılan ve sonrasında plasentaya farklılaşan, blastositlerin dışındaki hücre katmanındaki bazı hücreler 10-16. haftalarda kopup annenin kan dolaşımına girmektedir (Breman ve ark., 2016). Bu hücrelerin tespit edilmesi sayesinde bebeğin genetik profili hakkında yorum yapmak mümkündür (Singh ve ark., 2017).

Geliştirilmiş olan non-invaziv sensör sistemi ile anne ve bebeğin hayatını riske atmadan gebelikte bebekteki anormalliklerin yüksek doğruluklu tespiti yapılacaktır. Sensör sistemi anahtar-kilit mantığına dayanmaktadır. Tasarladığımız cihaza uyumlu cam plakalar üzerine yerleştirilecek olan mutant proteinlere yönelik antikorlar ve kandan anne kanından izole edilen proteinler arasında bağlanma olduğunda antikorlarda bulunan florasan madde ışıyacak ve bu ışımaya cihaz tarafından algılanacaktır. Protein-molekül etkileşiminin özel doğası yalnızca doğru uyumu olduğunda bağlanması hedef dışı moleküllerin algılanmasını engellemektedir. Bağlanma olayları sinyal oluşturabilen bir optik bir değişikliğe neden olmaktadır. Bu optik değişiklikler fotosensörler olarak algılanacak olup ışımaya varsa bebekte o hastalığın görülme olasılığı var şeklinde cihaz sonuç verecektir. Cihazın genel çalışma mantığı **Şekil 1**'de gösterilmiştir.



Şekil 1.: Cihazın Genel Çalışma Mekanizması

4. Yöntem

4.1. NIPT Yöntemi

İnvaziv olmayan prenatal testler, anne kanında bebeğe ait hücrelerin keşfedilmesinden sonra gündeme gelmiş olup daha kolay ve güvenli bir test imkanı için araştırma gruplarının odağı haline gelmiştir. Bu yöntem ilk trimester döneminde 10-16. hafta arasında blastosit adı verilen embriyo formunun dış katmanı olan trophoblastların koparak anne kanına geçmesine dayanmaktadır. Bu hücreler tespit edilerek bebeğin genetiği hakkında daha detaylı bilgi sahibi olmak mümkündür (Norwitz ve Levy, 2013). NIPT yönteminin genel mantığı Şekil 2'de özetlenmiştir.



Şekil 2. NIPT (Non-invasive prenatal testing) Yönteminin Genel Çalışma Mantığı

NIPT yöntemi şu ana kadar yapılan çalışmalarda daha çok DNA tespiti üzerine kullanılmıştır. Anne kanına giren hücrelerden elde edilen fetal DNA'lar PCR ile çoğaltılıp NGS ile mutasyon tespiti yapılarak incelenmektedir. Ancak bu yöntem sekanslamanın pahalı olması sebebiyle ulaşılabilir değildir. Ayrıca anne ve bebeğin hücrelerini ayırıp sadece bebeğe ait DNA'nın tespiti işlemi zorlaştırmaktadır.

NIPT dışında ise invaziv yöntemler de mevcuttur. Bu yöntemler daha uygun fiyatlı olmakla beraber amniyon sıvısından alınan örneklerle tespit edildiği için düşük riskini artırmakta ya da bebeğe zarar verebilmektedir. Bu nedenle NIPT yöntemi güvenlik açısından daha avantajlı olmakla beraber doğru ve spesifik sonuç veren bir yöntemdir.

4.2. Biyosensörler

"Biyosensör" terimi, ilaç keşfi, teşhis, biyotıp, gıda güvenliği ve işleme, çevresel izleme, savunma ve güvenlik gibi geniş bir uygulama yelpazesine sahip biyolojik algılama unsurunu içeren güçlü ve yenilikçi analitik cihazı ifade eder. Biyosensörler **Şekil 3'**de gösterildiği gibi analit, reseptör ve dönüştürücü kısım olmak üzere 3 ana bileşenden oluşmaktadır. Analit; analiz edilecek olan bileşenler olup biyoreseptör kısmına spesifik olarak bağlanan yapılardır. Reseptörler, canlı hücredeki biyomoleküler yapıların kullanılmasından dolayı biyoreseptör olarak adlandırılır. Biyoreseptör; analiti algılayabilen, analite özgü olan ve analit ile seçici olarak etkileşime girebilen biyomoleküler bir yapıya sahiptir. Dönüştürücü ise, reseptör ve analit kompleksinin oluşturduğu biyolojik sinyalleri ölçen ve bu biyolojik sinyalleri sayısal sinyallere dönüştüren yapılardır. Analitler biyoreseptörlerle 5 seçici bir kompleks oluşturur daha sonra fiziksel, elektrokimyasal, optiksel vb. bir değişim algılanır, bu değişim uygun transdüser kullanılarak ölçülür ve sayısal sinyallere dönüştürülür. Daha sonra elde edilen sinyaller sinyal güçlendiriciden (amplifikatör) geçerek veri işleme aşamasına aktarılmaktadır. Amplifikatörler yükselteç girişine uygulanan elektrik sinyali yükselten, kuvvetlendiren elektronik devrelerdir. Kullanılan dönüştürme yöntemine göre biyosensörler elektrokimyasal, optik, piezoelektrik, termal (kalorimetrik), akustik ve kütle temelli biyosensörler olarak sınıflandırılabilirler.



Şekil 3.: Analit, Biyoreseptör ve Dönüştürücüden Oluşan Tipik Bir Biyosensör Şeması

Biyobelirteç (*ing*.biomarker) olarak adlandırılan klinik moleküller, belirli bir hastalığın başlangıcını doğrulamaktadır ve tespit edilen biyobelirtecin konsantrasyonu, şüphelenilen hastalığın ilerleme durumu hakkında bilgi vermektedir. Biyobelirteçlerin tespit edilmesi hızlı ve hassas algılama sistemine sahip kolaylıkla taşınabilen biyosensörler geliştirilmiştir (Etzioni ve ark., 2003). Biyosensörler, sadece hedef analitin varlığını ve miktarını tespit etmek için değil, aynı zamanda hücre fizyolojisi, hücre mekaniği, ilaç moleküllerinin hücre üzerindeki etkisini vb . gibi diğer bazı etkenleri incelemek için kullanılan çok güçlü analitik cihazlardır. Bu nedenle, biyosensörler, hedef analit konsantrasyonundaki en küçük değişimi ayırt etmek için ve yüksek çözünürlüklü ölçülebilir bir sinyal elde etmek için hedefe yüksek bağlanma afinitesi göstermektedir ve iletim mekanizmasına içermektedir. Eser miktarda biyobelirteç tespit edebilen biyoanalitik bir cihaz olan biyosensörler projemizde kullanılmak üzere tercih edilmiştir (Chandra ve Prakash, 2020; Chandra, 2016). Ayrıca biyosensörler, algılama solüsyonundaki hedefi spesifik olmayan moleküllerden ayırt edebilmektedir. Biyosensörlerin analitik performansı, duyarlılık,

seçicilik, algılama sınırı, algılama aralığı, yeniden kullanılabilir kapasite vb. açısından ölçülmektedir. Bununla birlikte, biyosensörler, algılama matrisinin ve birlikte var olan diğer moleküllerin etkisinden dolayı sinyal üretimini engellemeye eğilimlidir (Fracchiolla ve ark., 2013; Carpenter ve ark., 2018; Mahato ve ark., 2018). Projemizde de optik tabanlı bir biyosensör kullanılacaktır.

4.3. Plakaların Tasarımı ve Üretimi

Tasarlanan cihazda fotosensörlerin daha etkili çalışması için saydam madde olan cam tercih edilmiştir. Bu sayede hem geri dönüşümü mümkün olan hem de cihazın en iyi şekilde kullanılmasını sağlayacak madde seçilmiştir.

Cam plakanın üzeri streptavidin ile kaplanacaktır; streptavidin ELISA ya da Wester Blot gibi yöntemlerde protein bağlanmasını artırmak ve zemin kaplamak için kullanılan bir proteindir. Biotinle kovalent olmayan en güçlü bağlanmayı sağladığı için üzerine konacak biotin içerikli proteinleri sıkı bir şekilde tutmaktadır (Mishra ve ark., 2019). Zemine streptavidin kaplama yapılarak kandaki proteinleri tespit edecek antikorlar cam yüzeye sabitlenebilecektir. Sabit durumdaki antikorlar sayesinde proteinlerin bağlanması ve cihazın ışığı okuması daha kolay olmaktadır.

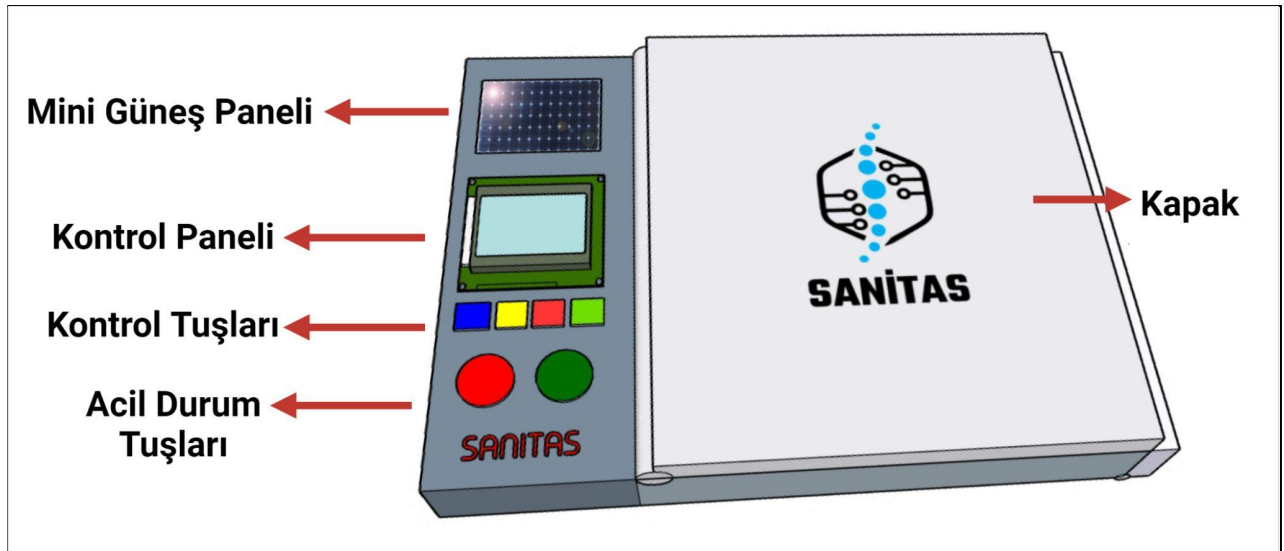
Tespit için kullanılacak olan antikorlar ilk aşamada mutasyonlu proteini tespit edecek şekilde piyasada var olan ticari antikorlardan kullanılacaktır. Sonraki aşamalarda diziye spesifik olarak tasarlanan antikor dizileri biyoteknolojik yöntemlerle bizler tarafından üretilecektir.

Antikorlar üzerine proteinlerin bağlanmasından sonra ışığı yapması için FITC (Fluorescein-isothiocyanate) bağlanacaktır. FITC proteinlere bağlanan bir floresan madde olup sensörlerde ve akış sitometri gibi temel yöntemlerde kullanılır. FITC, yaklaşık 495 nm uyarım ve 519 nm emisyon spektrumu tepe dalga boylarına sahiptir. FITC floresan maddesini uyarımı için uygun

4 adet LED seçilmiştir. (<https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/cell-analysis/fluorophores/fluorescein.html>)
Erişim tarihi: 09.05.2022).

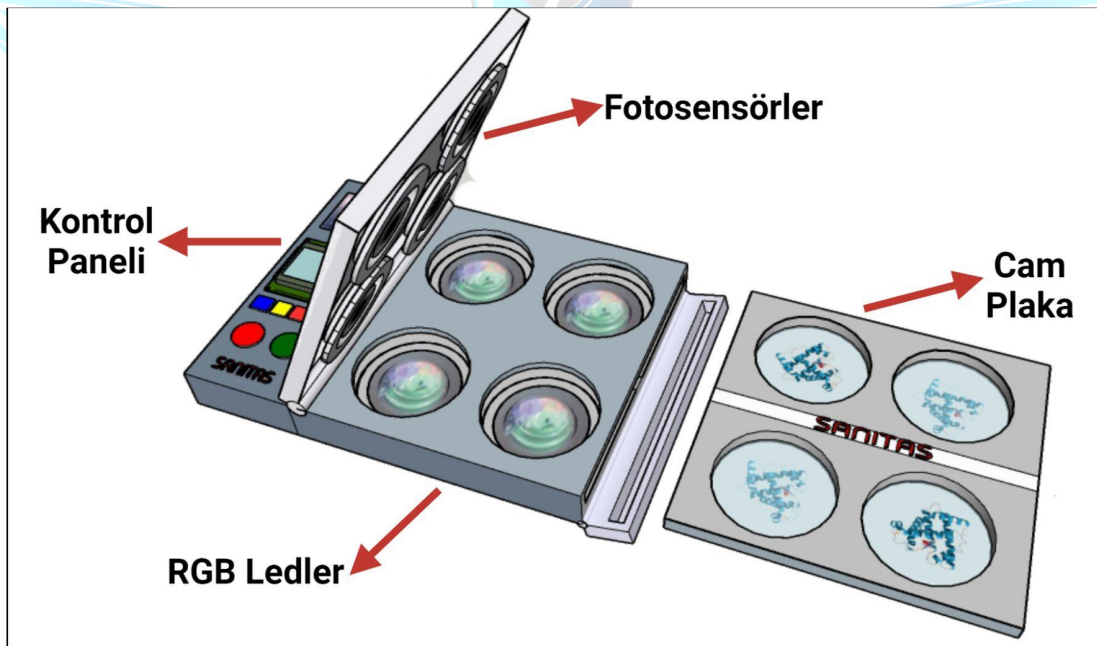
4.4. Cihaz Tasarımı ve Donanımı

Tasarladığımız cihaz doğacak çocukta var olma ihtimali olan hastalığı, hamilelik dönemindeyken tespit edebilmeyi amaçlamaktadır. Bu sayede hamile bireyin, hamileliğin erken dönemlerinde, çocuktaki olası hastalıkları bilebilmesi mümkün olacaktır. Cihazımız antijen-antikor bağlanması ve bağlanma sonucunda gerçekleşecek olan floresan madde ışığının saptanması mantığına dayalı çalışacaktır. Cihazın genel görünümü **Şekil 4**'te gösterilmiştir.



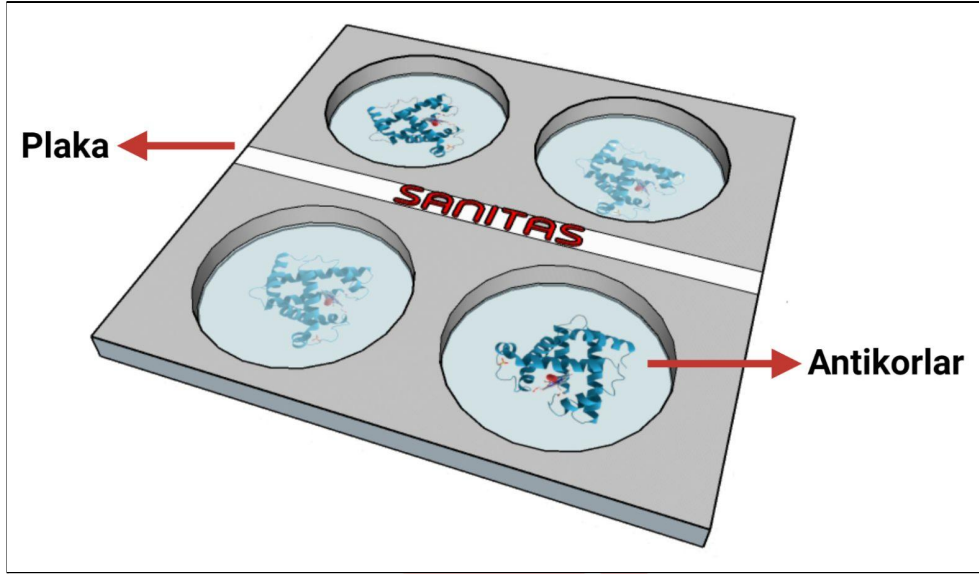
Şekil 4.: Tasarlanan Cihazın Genel Görüntüsü

*Şekil 5'*de gösterildiği gibi cihazın temel kısımları: kontrol paneli, fotosensörlerin bulunduğu kapak kısmı, RGB ledlerin bulunduğu taban kısmı, örneklerin damlatıldığı plakadır.



Şekil 5.: Cihazın Temel Kısımları

İlgili 4 hastalığın tespiti için önceden hazırlanan antijenler floresan madde ile birleştirilerek tabanı cam kuyucukların bulunduğu plakadaki her bir kuyucuğa yerleştirilmektedir. Sağlık kuruluşuna test amacıyla başvuran kişilerden alınacak kan örneği de daha sonra bu kuyucuklara damlatılmaktadır. Plaka cihazda ayrılan bölmeye kaydırılarak yerleştirilmektedir ve uç kısmında yer alan, plakayı sabitleyen ve dış etkenlere karşı koruyan kapak kilitlenmektedir.



Şekil 6.: Antikorların Bulunduğu Plakanın Tasarımı

Cihaza, plakanın hemen alt kısmında cam kuyucukların hizasında olacak şekilde RGB Ledler yerleştirilmiştir. Üst kısımda da kapaklı bir tasarım olarak, kuyucukların hizasına denk gelecek şekilde fotosensörler bulunmaktadır. Kapak kapatıldığında taban ve kapak arasında örneklerin bulunduğu plaka yer almaktadır. Kontrol panelinden gerekli ayarlamalar yapıldıktan sonra cihaz çalıştırılmaktadır.



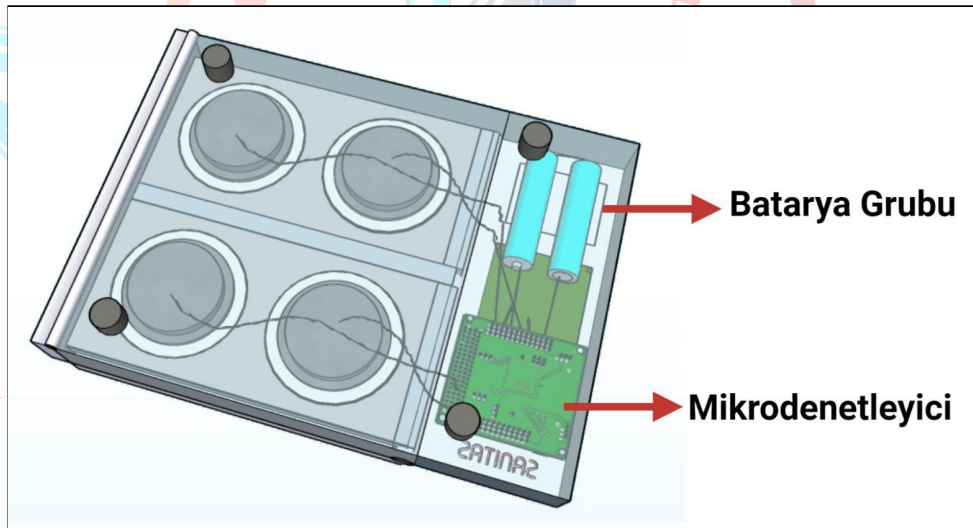
Şekil 7.: Cihazımızın Üstten Görünümü ve Kontrol Paneli

RGB Ledler belirli bir dalga boyunda ışık saçmaktadırlar. Eğer plakada bulunan antijen-antikor etkileşimi gerçekleşirse floresan madde ışınması meydana gelmektedir. Kapak kısmındaki fotosensörler, RGB Ledlerden saçılan ışık ve floresan madde ışığını birleşik olarak algılamaktadır ve dalga boyu ölçümü yapmaktadırlar. Ölçüm sonucunda ortaya çıkan dalga boyu, başta RGB Ledlerden saçılan dalga boyundan daha büyük ise, floresan madde ışınması gerçekleştiği ve toplam dalga boyunda birleşme sonucu artış gözlemlendiği kanısına varılmaktadır. Sonuçlar LCD ekrandan görüntülenmektedir ve analiz edilebilmektedir. Örneklerin yerleştirildiği plaka tamamen geri dönüştürülebilir ve yeniden kullanılabilir. Olası istenmeyen bir durumda sistemin zarar görmemesi için köşede bulunan acil durum butonları ile sisteme müdahale edilmektedir.

Cihazımızda Kullanılan Komponentler

- **Robotys LDR fotosensör** : Fotosensörler, ışık veya diğer elektromanyetik radyasyonları algılayabilen sensörlerdir. Üzerine düşürülen ışığın dalga boyu ölçümünü yapıp elektriksel sinyal olarak dijital ortama aktarabilir.

- **PWM sürmeli 10mm 3 Renk RGB led** : RGB (Red-Green-Blue) kelimelerinin kısaltmalarından oluşan ve 3 ana rengi kullanarak sonsuz sayıda dalga boylu (farklı renkli) ışık üretebilen komponentlerdir. PWM sürmesi sayesinde hassas dalga boyu ayarı yapılabilmektedir.
- **33mm Start-Stop Butonu Bas-Çek 2NC (Delik Çapı 16mm)** : Cihazı aktif hale getirmek ve deaktive etmek için kullanılan güç butonlarıdır. Enerji akışını açan ve kesen bir anahtar yapısı bulunmaktadır.
- **Walfront 4.0" TFT LCD Ekran Modülü HD IPS 800x480mm** : Mikrodenetleyicideki süreçleri ve gözlemlenmek istenen verileri (yazı, görsel, şekil) LCD modül sayesinde ekranında gösterebilen komponenttir.
- **STM32F103C6T6A Mikrodenetleyici (32-Bit ARM Cortex-M3 Çekirdek)** : Oldukça güçlü bir mimariyle donatılmış; kapasitörler, mosfetler, endüktanslar, diyotlar, sürücüler ve mikroişlemci içeren bir komponenttir. İçerisinde çalışan yazılım sayesinde ilgili pinlere sinyal gönderir ve alır. Bu sayede istenilen algoritmanın uygulanmasını sağlar.
- **9V Güneş Paneli** : Güneş ışığını (veya oda ışığı) jonksiyonları sayesinde elektronlar ve protonlar olarak ayırıp enerjilerinin açığa çıkmasını sağlar ve bu enerjiyi yeniden kullanılabilir elektrik enerjisine dönüştürür.
- **9V Şarj Edilebilir Batarya**: Yeniden doldurulabilir enerji depolayıcı batarya sistemidir.



Şekil 8.: Tasarlanan Cihazın Alttan Görünümü

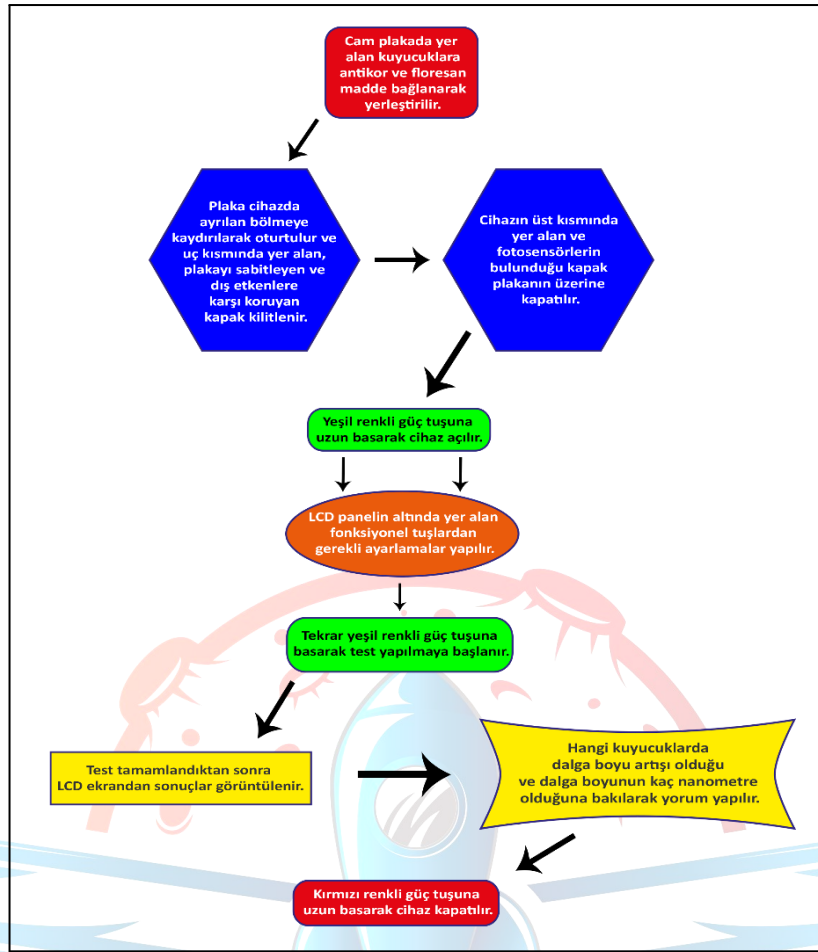
”Cihaz tasarımı SketchUp programı kullanılarak hazırlanmıştır.” Cihaz hakkında daha detaylı fikir sahibi olmak için aşağıdaki linkleri ziyaret edebilirsiniz.

Video 1 - <https://youtu.be/11ucaNag-zc>

Video 2 - <https://youtu.be/jgkP8goREGI>

4.5. Cihaz Algoritması

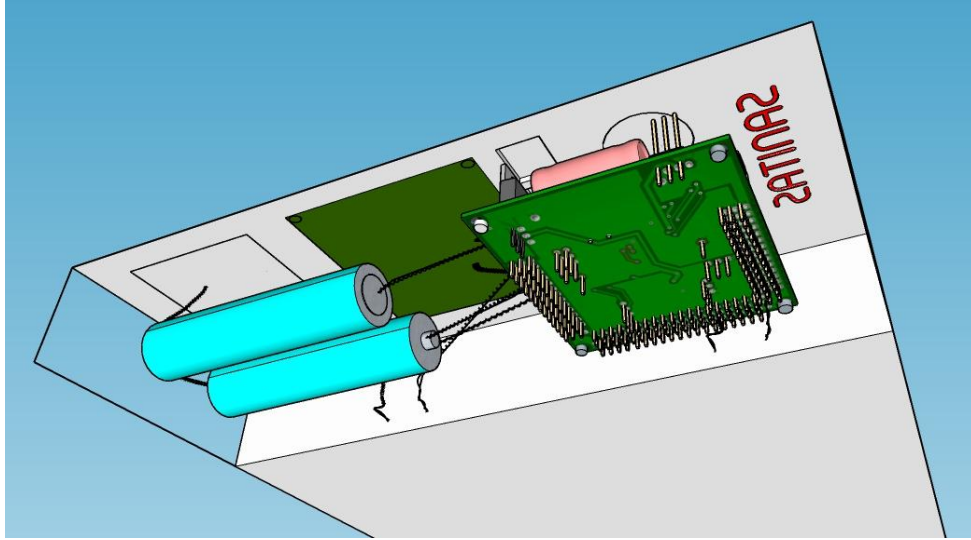
Tasarladığımız cihazın temel algoritması *Şekil 9*'da sunulmuştur.



Şekil 9.: Cihazın Çalışma Algoritması

4.6. Verilerin İşlenmesi

Cihazımızda bulunan kuyucuklara floresan ve antikor madde bağlanarak yerleştirme işlemi yapılmaktadır. Daha sonra testin güvenilirliğini artırmak için gerekli kapak kilitleme işlemleri yapılmaktadır. Cihazın tasarımında kullanılan Robotys LDR Fotosensörler ile kapak denk gelecek şekilde yerleştirilmektedir. Eğer kapatma işlemi doğru yapılmazsa cihazımız uyarı verecektir. Daha sonra yeşil renkli güç butonuna 3 saniye basılarak işlem başlatılmaktadır. Tasarımda kullanılan LCD Panel yardımıyla kullanıcı tarafından istenilen değerler girilmektedir. İstenilen değerlerin girilmesinden sonra cihazımız test işlemine hazır hale gelmektedir ve güç butonuna basarak test işlemi başlatılmaktadır. Test süresi boyunca Robotys LDR Fotosensörler yardımıyla alınan veriler cihazımızda kullandığımız mikroişlemci STM32F103C6T6A Mikrodenetleyici vasıtasıyla kendi içerisinde işlenerek kullanıcıya LCD ekran üzerinde gönderilmektedir. Testi yapan kişi LCD ekranda görülen değerlerine bakarak (dalga boyu artışı ya da azalışına göre) test sonuçlarını yorumlayabilmektedir. Yapılan tüm bu işlemler sonucunda testimiz başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş olmaktadır ve kırmızı renkli güç tuşuna 3 saniye basılarak cihaz kapanmaktadır. Kullanılan mikrodenetleyici **Şekil 10'** da gösterilmektedir.



Şekil 10.: STM32F103C6T6A Mikrodenetleyici

5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Tasarlayacağımız sensör sistemi mevcut testlerin aksine invaziv olmayan bir test yöntemi içerdiği için anne ve bebeğin sağlığını hiçbir şekilde riske atmamaktadır. Amniyosentez yönteminden tamamen farklı olarak annenin uterusuna ya da bebeğe dokunmadan ve enfeksiyon risklerini minimuma indirerek sadece kan aracılığıyla test yapılmaktadır. Her hastalığın mutasyonlu protein/reseptörüne göre tasarlanan antikorlar sayesinde bağlanma afinitesi yüksek ve hastalığa spesifik sonuç veren bir sensör tasarlanmıştır. Diğer yöntemlerden farklı olarak da tek tüp kan ile birkaç saat içinde sonuç veren hızlı bir yöntemdir. Ekonomik olarak da diğer invaziv testlere/ yöntemlere kıyasla son derece uygun fiyatlı ve herkesin ulaşabileceği konumda bir testtir. Mevcut testlerden de farklı olarak anne ve bebeğin hayatını riske atmadan teşhis imkanı sunmayı ve tedavinin erken uygulanmasını sağlamak hedeflenmektedir. Non-invaziv tespit yöntemi sayesinde ise anne adaylarında sağkalım oranının artması amaçlanmıştır.

6. Uygulanabilirlik

Hazırlamış olduğumuz sensör sistemimiz; cihaz pratiğinde ve biyolojik literatürlere uygun olarak hazırlamış, olası risk ve fayda hesaplamaları yapılmış, hali hazırda kullanılan invaziv test yöntemlerinden farklı olarak non-invaziv yöntemi içeren üstün teknolojiyi bilgiyle birleştirerek alanında yeni bir sistem olmaktadır. Gerekli mali hesaplamalar **Bölüm 7** içerisinde ve olası risk faktörlerinin değerlendirilip ikinci planların hazırlanması **Bölüm 9** içerisinde detaylı bir şekilde sunulmuştur. Geliştirmiş olduğumuz yöntem, anne-bebek arasındaki sağlığın korunmasını sağlamakta, süregelen test aşamalarının süresi kısaltmaktadır. Cihazımız ve yöntemimiz, mevcut piyasadaki güncel ve uygulanmaya hazır yöntemlerin önemli özelliklerinin birleşiminden oluşmaktadır. Spesifik olarak 4 hastalık üzerinde çalışılması, alanı doğru yönde daraltarak sonuç doğruluğunu yükseltmektedir. Çalışmamız, ileriki dönemlerde diğer fetal ve genetik hastalıklar için de geliştirmeye müsait olup pek çok kalıtsal hastalığın ilk trimester içerisinde tespitinin en güvenli şekilde yapılması için imkan sağlamaktadır.

7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

7.1. Maliyet Tablosu ve Malzeme Listesi

MALİYET TABLOSU

MALZEME TÜRÜ	TUTAR	ADET	NOT
Güneş Enerji Pili	66.20 ₺	1	145x95 mm boyutunda 9V ile çalışan bir adet güneş enerji pili temin edilecektir.
Fotosensör	140.00 ₺	10	Robotys marka 10 adet LDR ışık sensörü veri aktarımı amacıyla kullanılacaktır.
Mikroişlemci	160.79 ₺	1	Kullanılacak mikroişlemci Arduino Nano boyutu; STM32F103C6T6A mikrodenetleyicili geliştirme kartıdır.
LCD Ekran	260.03 ₺	1	Walfront marka 4.0" İnc TFT LCD Ekran Modülü HD IPS 800x480mm 1 adet LCD ekran kullanılacaktır.
Start-Stop Butonu	88.00 ₺	2	33mm Start-Stop Butonu Bas-Çek 2NC (Delik Çapı 16mm) kullanılacaktır.
Sıcaklık Sensörü	45.00 ₺	2	Çin üretimi LM35DZ marka hassas sıcaklık sensörü kullanılacaktır.
Kablolar	50.00 ₺	5	Ortalama 5 metre kullanılacağı ön görülmüştür.
RGB Led	160.00 ₺	4	PWM sürmeli 10 mm 3 renk RGB Led kullanılacaktır.
Tekrar Kullanılabilir Cam Test Plakası	400.00 ₺	1	Çevreci bir yaklaşım ile özel tasarlanmış cam plakalar birden fazla test için uygun olacaktır.
Streptavidin (cam yüzeyi coat etmek için)	3,986.91 ₺	2	Cam yüzeyi coat etmek için 2 mg temin edilecektir.
FITC Florasan Madde	3,997.18 ₺	50	İlgili proteine bağlanarak ışığa alınması için 50 mg kullanılacaktır.
Antikor: anti-CFTR	3,825.84 ₺	1	
Antikor: anti-HBB	7,173.44 ₺	1	
Antikor: anti-HTT	4,465.54 ₺	1	
Antikor: anti-HEXA	5,502.18 ₺	1	
Toplam	30,321.11 ₺		

**Fiyatlar toplam adet fiyatlarıdır.

Antikorlar tek test süreci için alınacaktır.

Güncel kurlar üzerinden fiyat hesaplamaları yapılmıştır.

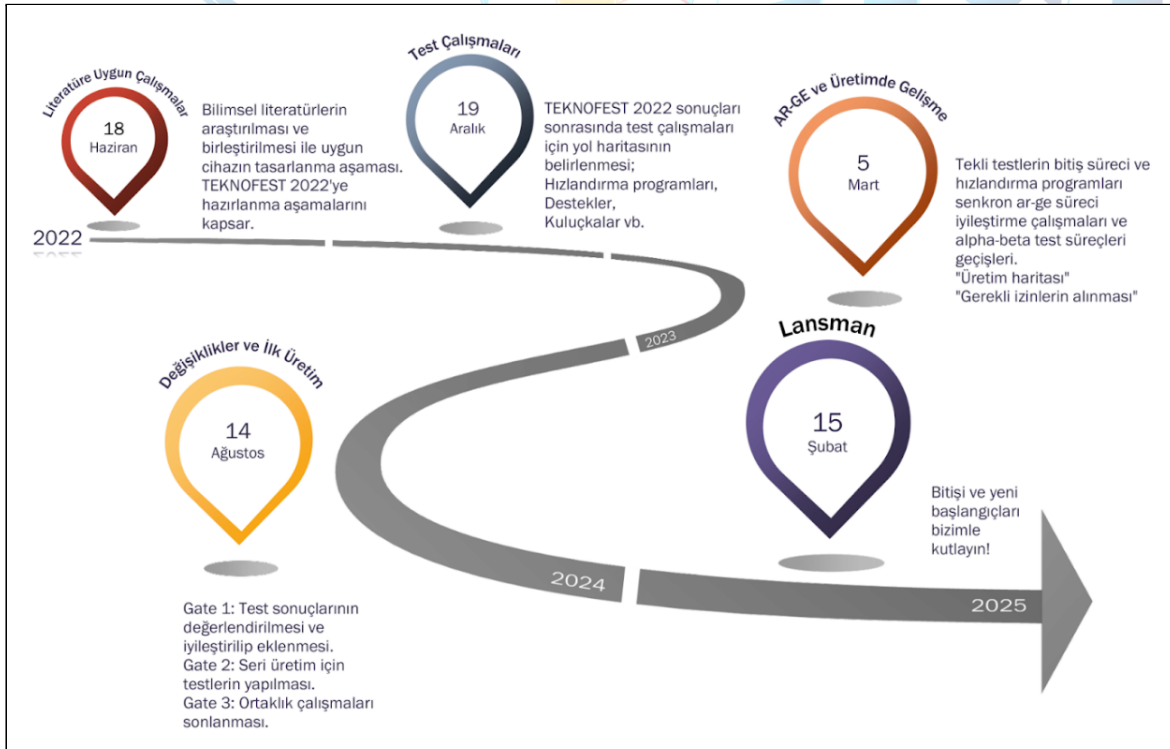
Malzeme adetlerinin birçoğu olası risklere ve oluşabilecek israfa karşılık maksimum miktarda tutulmuş, piyasadaki fiyat performans açısından en yüksek malzemeler tercih edilmiştir. Antikor konusundaki fiyattan doğacak risk değerlendirmesi **Bölüm 9**'da detaylandırılmıştır.

7.2. Dönemsel Harcama Planı

Dönemsel Harcama Planı			
<i>Maliyet Tablosu içerisinde verilen malzemelerin kullanım dönemleri ve iş paketlerinin senelik planları;</i>			
Malzeme ve İş Paketi	6 AYLIK	1 SENELİK	3 SENELİK
MALZEMELER			
Cihaz Komponentleri	✓	✓	✓
Biyolojik Materyaller		✓	✓
İŞ PAKETLERİ			
Cihazın Üretimi	✓		
Yazılımların Tamamlanması	✓		
Hasta Örneklerinin Toplanıp İncelenmesi		✓	
Kimyasal ve Biyolojik Süreçlerin Prosedür		✓	✓
Cihaz Optimizasyonları			✓
Numunelerin Cihazda İncelenmesi			✓
Validasyon			✓

Şekil 11.: Dönemsel Harcama Planı

7.3. Zaman Planlaması



Şekil 12.: Kilometre Taşları

8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar)

Tüm dünyada yılda 200 milyon kadın gebe kalmakta ve 128 milyon doğum olmaktadır. Gebelik ve doğum ile komplikasyonlar sonucu yaklaşık 600 bin kadın ise hayatını kaybetmektedir. Günümüzde hamilelik sürecinin erken dönemlerinde bebeğin gelişiminin incelenmesi için yapılan ikili ve üçlü testler invaziv test süreci içerdiği için anne adayları ve bebekler için ciddi risk teşkil etmektedir. Doğum oranının hızla arttığı bu dönemde anne adayları için non-invaziv şekilde kandan bebeğin otozomal hastalığının tespiti hayati önem taşımaktadır. Geliştirdiğimiz cihaz anne adaylarının ikili ve üçlü testlerden önce tercih edebileceği bir cihazdır. Hedef kitlemiz anne adayları ve bununla ilgili çalışmalar yapan araştırma merkezleridir. Uygun fiyatlı ve anne-bebek sağlığı için düşük risk içeren cihazımız piyasadaki mevcut tanı yöntemlerine kıyasla daha ulaşılabilir ve güvenilirdir. Geliştirilecek olan non-invaziv biyosensör sistemi ile anne ve bebeğin hayatını riske atmadan gebelikteki anormalliklerin yüksek doğruluklu tespiti yapılacaktır.

9. Riskler

RİSK FAKTÖRÜ	RİSKLER	NEDENLERİ	ÇÖZÜM ÖNERİLERİ
TEKNİK	1.1. Proteinlerin Tespitinde Zorluk	Fetal hücrelerin az miktarda kana karışması.	Sadece fetal hücrelerden protein izole ederek daha spesifik bir protein konsantrasyonu yapılabilir.
		İzolasyon aşamasında kayıp.	Farklı ve spesifik izolasyon yöntemlerinin geliştirilmesi.
	1.2. Çip Krizi	Piyasadaki hammadde yetersizliği sebebiyle çip krizi yaşanmaktadır.	Yaygın olarak kullanılan mikrodenetleyiciler kullanılarak cihaz boyutunda minik bir büyümeyle risk önlenir.
	1.3. Fotosensör Lensinin Kirlenmesi	Antijen-antikor bağlanması sırasında oda sıcaklığında oluşabilecek buhar lensi kaplayabilir.	Testten sonra kapak bir süre açık bekletilerek veya lens silinerek risk önlenir.

	1.4. RGB Ledlerde Parlaklık Kaybı	Ledlerin içerisinde yer alan ve parlamasını sağlayan gaz, uzun süre açık kalmaya ve aç-kapa yapılmasına bağlı olarak parlaklık kaybedebilir.	Komponent maliyeti düşük olduğu için değişimi sağlanabilir.
	1.5. Güneş Panel Arızası	Güneş paneli kristalleri çizilmeye bağlı olarak verim kaybına uğrayabilir.	Jelatinle güneş paneli yüzeyi korunması sağlanır.
	1.6. Kontrol Paneli Arızası	Tuşlar ve LCD ekran kullanıma bağlı olarak eskiyebilir.	Tuşlar yenisiyle değiştirilebilir, LCD ekrana jelatin uygulanır ve eskime geciktirilir.
EKONOMİK	2.1. Antikorların Sürekli Alınması	Türkiye’de üretimi yapılmadığı için dışa bağımlılık söz konusu olursa.	Projemizin test aşamalarını başarı ile geçmesi sonucunda antikor üretimi planını hayata geçirmek.

Risk faktörlerinin teknik kısmının birçoğunu her cihazda olabilen küçük risk maddeleri oluşturmaktadır. Çözüm yöntemleri bilindik, sık sık kullanılan yöntemler oluşturmaktadır. Biyolojik faktörler ise proje süreç yönetim planımızda çözümleri düşünülmüş, detaylandırma aşamasındadırlar.

10. Kaynaklar

- [1] Etzioni, R., Urban, N., Ramsey, S., McIntosh, M., Schwartz, S., Reid, B., ... & Hartwell, L. (2003). The case for early detection. *Nature reviews cancer*, 3(4), 243-252.
- [2] Chandra, P., & Prakash, R. (2020). *Nanobiomaterial engineering*. Springer, Singapore.
- [3] Chandra, P. (2016). *Nanobiosensors for personalized and onsite biomedical diagnosis*. The Institution of Engineering and Technology.
- [4] Fracchiolla, N. S., Artuso, S., & Cortelezzi, A. (2013). Biosensors in clinical practice: focus on oncohematology. *Sensors*, 13(5), 6423-6447.
- [5] Carpenter, A. C., Paulsen, I. T., & Williams, T. C. (2018). Blueprints for biosensors: design, limitations, and applications. *Genes*, 9(8), 375.
- [6] Mahato, K., Maurya, P. K., & Chandra, P. (2018). Fundamentals and commercial aspects of nanobiosensors in point-of-care clinical diagnostics. *3 Biotech*, 8(3), 1-14.
- [7] Singh R, Hatt L, Ravn K, et al. Fetal cells in maternal blood for prenatal diagnosis: A love story rekindled. *Biomark Med*. 2017;

- [8] Breman, A. M., Chow, J. C., U'Ren, L., Normand, E. A., Qdaisat, S., Zhao, L., Henke, D. M., Chen, R., Shaw, C. A., Jackson, L., Yang, Y., Vossaert, L., Needham, R. H. V., Chang, E. J., Campton, D., Werbin, J. L., Seubert, R. C., Van den Veyver, I. B., Stilwell, J. L., Kaldjian, E. P., and Beaudet, A. L. (2016) Evidence for feasibility of fetal trophoblastic cell-based noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn*, 36: 1009– 1019. doi: 10.1002/pd.4924.
- [9] Norwitz, E. R., & Levy, B. (2013). Noninvasive prenatal testing: the future is now. *Reviews in obstetrics & gynecology*, 6(2), 48–62.
- [10] Mishra, M., Tiwari, S., Gunaseelan, A., Li, D., Hammock, B. D., & Gomes, A. V. (2019). Improving the sensitivity of traditional Western blotting via Streptavidin containing Poly-horseradish peroxidase (PolyHRP). *Electrophoresis*, 40(12-13), 1731–1739. <https://doi.org/10.1002/elps.201900059>
- [11] <https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/cell-analysis/fluorophores/fluorescein.html>
- [12] Scotchman E, Chandler NJ, Mellis R, Chitty LS. Noninvasive Prenatal Diagnosis of Single-Gene Diseases: The Next Frontier. *Clin Chem*. 2020 Jan 1;66(1):53-60. doi: 10.1373/clinchem.2019.304238. PMID: 31843868.
- [13] Verhoef, T. I., Hill, M., Drury, S., Mason, S., Jenkins, L., Morris, S., and Chitty, L. S. (2016) Non-invasive prenatal diagnosis (NIPD) for single gene disorders: cost analysis of NIPD and invasive testing pathways. *Prenat Diagn*, 36: 636– 642. doi: 10.1002/pd.4832.
- [14] www.mayoclinics.com Erişim tarihi: 12.03.2022
- [15] Kumar, Abbas, Aster, Robbin's Basic Pathology, 10th Edition, Elsevier
- [16] Kökbaş, U., Kayrın, L., & Tuli, A. (2013). Biyosensörler ve Tıpta Kullanım Alanları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 22(4), 499–513.
- [17] Jeppesen, LD, Hatt, L, Singh, R, et al. Cell-based non-invasive prenatal diagnosis in a pregnancy at risk of cystic fibrosis. *Prenatal Diagnosis*. 2021; 41: 234– 240. <https://doi.org/10.1002/pd.5861>

