



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



HÜCRE CANLILIK TESPİTİ İÇİN İLETİM
HATTI TABANLI BİYOSENSÖR TASARIMI
VE UYGULAMASI

Taha Fatih ATEŞ

DOKTORA TEZİ

Elektrik Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı

Aralık-2025
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Taha Fatih ATEŞ tarafından hazırlanan “**Hücre Canlılık Tespiti için İletim Hattı Tabanlı Biyosensör Tasarımı ve Uygulaması**” adlı tez çalışması 02/12/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektrik Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Doç. Dr. Seyfettin Sinan GÜLTEKİN

.....

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ali Osman ÖZKAN

.....

Üye

Prof. Dr. Emin ÜNAL

.....

Üye

Doç. Dr. Muhammed Fahri ÜNLERŞEN

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Adem YILMAZ

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 24DR19003 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Taha Fatih ATEŞ
02/12/2025

ÖZET

DOKTORA TEZİ

HÜCRE CANLILIK TESPİTİ İÇİN İLETİM HATTI TABANLI BİYOSENSÖR TASARIMI VE UYGULAMASI

Taha Fatih ATEŞ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Elektrik Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ali Osman ÖZKAN

2025, 115 Sayfa

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Ali Osman ÖZKAN

Prof. Dr. Emin ÜNAL

Doç. Dr. Seyfettin Sinan GÜLTEKİN

Doç. Dr. Muhammed Fahri ÜNLERŞEN

Dr. Öğr. Üyesi Adem YILMAZ

Tez çalışmasında, kanser hücre kültürlerinde sitotoksikite tespiti için kullanılan geleneksel biyolojik yöntemlere alternatif olabilecek, hızlı, tekrarlanabilir, işaretli ve non-invaziv bir ölçüm yöntemi geliştirilmiştir. Çalışmanın temel amacı, mikrodalga frekanslarında çalışan metamalzeme tabanlı bir Ayrık Halka Rezonatör (Split Ring Resonator-SRR) biyosensör sistemi tasarlamak, üretmek ve hücre canlılığı değişimlerini elektromanyetik parametreler üzerinden izleyebilmek ve sensör etkinliğini geleneksel yöntemler ile doğrulamaktır.

Araştırmada, PANC-1 ve BxPC-3 pankreas kanseri hücre hatları seçilmiş ve Quercetin sitotoksik ajanının farklı dozlarda (10, 100, 500, 1000 µg/ml) ve farklı inkübasyon sürelerinde (24, 48, 72 saat) uygulandığı kültürlerde sitotoksik etkinin ölçümü hedeflenmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında, koaksiyel prob ve Vektör Ağ Analizörü kullanılarak hücre süspansiyonlarının 1–20 GHz aralığındaki dielektrik özellikleri belirlenmiş, canlı hücre yoğunluğundaki azalmaya paralel olarak dielektrik sabitinin (ϵ') sistematik biçimde düştüğü saptanmıştır. Bu ilişki, hücre membranlarının kapasitif etkisine dayanan bir biyofiziksel model ile açıklanmıştır.

Elde edilen dielektrik veriler kullanılarak çift modlu (1,4 GHz ve 2,6 GHz) SRR sensör tasarlanmış, optimize edilmiş ve prototip üretilmiştir. Deneysel ölçümler sonucunda, sitotoksikite arttıkça rezonans frekansının yüksek frekansa kaydığı ve S21 iletim katsayısının genlik değerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Geliştirilen sensör, canlı hücrelerin oluşturduğu kapasitif etkinin kaybını elektromanyetik düzlemde başarıyla tespit etmiştir.

Sensör verileri, eşzamanlı olarak yürütülen MTT hücre canlılık testi ve mikroskopi morfoloji analizleriyle karşılaştırılmış; her iki yöntemin sonuçları arasında çok güçlü pozitif korelasyon ($r = 0,95-1,00$) belirlenmiştir. Bu bulgu, mikrodalga sensörün hücre canlılığını güvenilir biçimde yansıtıldığını göstermektedir. Ayrıca, elde edilen S-parametre verileri sınıflandırılmış ve farklı sitotoksikite seviyeleri %96 doğruluk oranı ile otomatik olarak ayırt edilebilmiştir. Regresyon modelleri kullanılarak MTT % canlılık değerleri sensör çıktılarından doğrudan tahmin edilmiş ve $R = 0,97$ korelasyon katsayısına ulaşılmıştır.

Geliştirilen SRR tabanlı biyosensör; MTT gibi kimyasal reaktiflere ihtiyaç duymayan, düşük maliyetli, hızlı, tekrarlanabilir, taşınabilir ve otomasyona uygun bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Bu tez, kanser araştırmalarında hücre canlılığının elektromanyetik tabanlı olarak izlenmesine yönelik yeni bir yaklaşım sunmakta ve gelecekte gerçek zamanlı, çoklu parametrelili biyosensör platformlarının geliştirilmesine öncülük etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyosensör, Dielektrik, Hücre Canlılığı, Metamalzeme, MTT, Pankreas Kanseri, Sitotoksikite, Split Ring Rezonatör

ABSTRACT

Ph.D THESIS

DESIGN AND IMPLEMENTATION OF A TRANSMISSION LINE-BASED BIOSENSOR FOR CELL VIABILITY DETECTION

Taha Fatih ATEŞ

NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN ELECTRICAL AND ELECTRONICS ENGINEERING

Advisor: Asst. Prof. Dr. Ali Osman ÖZKAN

2025, 115 Pages

Jury

Asst. Prof. Dr. Ali Osman ÖZKAN

Prof. Dr. Emin ÜNAL

Assoc. Prof. Dr. Seyfettin Sinan GÜLTEKİN

Assoc. Prof. Dr. Muhammed Fahri ÜNLERŞEN

Asst. Prof. Dr. Adem YILMAZ

In this thesis, a rapid, reproducible, label-free, and non-invasive measurement method was developed that could serve as an alternative to traditional biological methods used for cytotoxicity detection in cancer cell cultures. The primary objective of the study was to design and fabricate a metamaterial-based Split Ring Resonator (SRR) biosensor system operating at microwave frequencies, monitor cell viability changes via electromagnetic parameters, and verify sensor efficacy using conventional methods.

The study selected PANC-1 and BxPC-3 pancreatic cancer cell lines and aimed to measure cytotoxic effects in cultures treated with quercetin cytotoxic agents at different doses (10, 100, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$) and different incubation times (24, 48, and 72 hours). In the first phase of the study, the dielectric properties of cell suspensions in the 1–20 GHz range were determined using a coaxial probe and a Vector Network Analyzer. It was determined that the dielectric constant (ϵ') systematically decreased with decreasing viable cell density. This relationship was explained by a biophysical model based on the capacitive effect of cell membranes.

Using the obtained dielectric data, a dual-mode (1.4 GHz and 2.6 GHz) SRR sensor was designed, optimized, and prototyped. Experimental measurements revealed that as cytotoxicity increased, the resonance frequency shifted to higher frequencies and the amplitude of the S_{21} transmission coefficient decreased. The developed sensor successfully detected the loss of capacitive effect generated by viable cells in the electromagnetic plane.

The sensor data were compared with simultaneously conducted MTT cell viability tests and microscopy morphology analyses; a very strong positive correlation ($r = 0.95\text{--}1.00$) was determined between the results of both methods. This finding demonstrates that the microwave sensor can reliably reflect cell viability. Additionally, the obtained S-parameter data were classified, and different cytotoxicity levels were automatically distinguished with 96% accuracy. Using regression models, MTT% viability values were directly estimated from sensor outputs, achieving a correlation coefficient of $R = 0.97$.

The developed SRR-based biosensor stands out as a low-cost, rapid, reproducible, portable, and automation-friendly alternative that does not require chemical reagents such as MTT. This thesis presents a new approach to electromagnetic-based cell viability monitoring in cancer research and paves the way for the development of real-time, multi-parameter biosensor platforms in the future.

Keywords: Biosensor, Cell Viability, Cytotoxicity, Dielectric, Metamaterial, MTT, Pancreatic Cancer, Split Ring Resonator

ÖNSÖZ

Tez çalışması, yoğun bir emek ve araştırma sürecinin sonucunda ortaya çıkmıştır. Farklı disiplinleri bir araya getiren bu çalışmanın planlanmasından tamamlanmasına kadar geçen süreçte desteklerini ve tecrübelerini benden esirgemeyen herkese teşekkür ederim.

Bu sürecin başından sonuna kadar tecrübesi, değerli yönlendirmeleri, bilimsel vizyonu ve sabrıyla bana rehberlik eden kıymetli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ali Osman ÖZKAN'a şükranlarımı sunarım.

Tezimin değerlendirme sürecinde yapıcı eleştirileri, değerli görüş ve önerileriyle çalışmamın bilimsel kalitesinin artmasına ve olgunlaşmasına katkılarda bulunan tez izleme komitemde yer alan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Emin ÜNAL'a ve Doç. Dr. Seyfettin Sinan GÜLTEKİN'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, birden fazla disiplinin kesişiminde yer almaktadır. Çalışmalarımın biyolojik altyapısını oluşturan hücre kültürü ve sitotoksosite analizleri sırasındaki desteklerinden dolayı Doç. Dr. Tuğçe DURAN'a, değerli fikirleriyle çalışmalarına yön veren Doç. Dr. Kamile YÜCEL'e, elektromanyetik ölçüm süreçlerinde ve sonrasında destek olan Dr. Öğr. Üyesi Olcay ALTINTAŞ'a verdikleri değerli destek ve sağladıkları imkanlar için teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince 24DR19003 proje numarası ile mali destek sağlayan Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü'ne ve elektromanyetik ölçümler için altyapılarını kullanıma açan KTO Karatay Üniversitesi Akıllı Teknolojiler Merkezi'ne teşekkür ederim.

Bu uzun ve yorucu süreçte en büyük güvencem ve motivasyon kaynağım olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim. Onların bana olan koşulsuz inançları, sevgileri ve fedakarlıkları karşılaştığım her zorluğun üstesinden gelmemi sağlayan en büyük güç oldu.

Taha Fatih ATEŞ
KONYA-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	7
2.1. Hücre Kültürü Çalışmalarında Kullanılan Geleneksel Hücre Canlılığı Değerlendirme Yöntemleri	7
2.1.1. MTT testi	8
2.1.2. MTT'nin kanser araştırmalarındaki rolü.....	9
2.1.3. MTT ve yeni nesil yöntemlerin karşılaştırılması	10
2.1.4. XTT testi	11
2.1.5. WST tabanlı testler	11
2.1.6. Resazurin testi.....	12
2.1.7. Trypan blue boyama	12
2.1.8. ATP bazlı testler	13
2.2. Elektromanyetik Dalgalar ve Biyosensör Uygulamaları	13
2.3. Biyosensörler	15
2.4. Metamalzeme Tabanlı Sensörler	18
2.5. Dielektrik Ölçüm Yöntemleri	23
2.6. Biyolojik Doku ve Hücrelerin Dielektrik Özellikleri	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1. Hücre Kültürünün Hazırlanması.....	26
3.2. Sitotoksik Ajan Uygulanması	29
3.3. Dielektrik Özellik Ölçümü.....	30
3.4. Dalga Kılavuzu Ölçümleri	38
3.5. Sensör Tasarımı	40
3.6. Sensör Üretimi	49
3.7. SRR Biyosensör ile Hücre Hatlarının Ölçümleri.....	52
3.8. Standart Hücre Canlılığı Analizi.....	58
3.9. Veri İşleme ve Analiz Yöntemleri	60
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	62
4.1. Hücre Canlılığının Dielektrik Özellikler Üzerindeki Etkisi	62
4.2. Hücre Canlılığının Mikroalga İletim Parametreleri Üzerindeki Etkisinin Dalga Kılavuzu Bulguları	66
4.3. SRR Biyosensör Tasarımı ve Simülasyon Sonuçları.....	67
4.4. Deneysel SRR Biyosensör Ölçüm Sonuçları.....	68

4.5.	MTT Hücre Canlılığı Analizi ve Sensör Verileri ile Karşılaştırılması.....	79
4.6.	Veri Analizleri	88
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	93
5.1	Sonuçlar	93
5.2	Öneriler	95
6.	KAYNAKLAR.....	96

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Karbondioksitli inkübatör (a) ayarlama ekranı ve (b) içerisinde inkübe edilen kültürler.....	27
Şekil 3.2. Kullanılan trinoküler inverted mikroskop	28
Şekil 3.3. Biyolojik güvenlik kabini	28
Şekil 3.4. VNA temel blok diyagramı (Collier vd., 2007)	30
Şekil 3.5. Hazırlanan taşıma düzeneği ve flasklar	32
Şekil 3.6. Ölçümlerde kullanılan VNA	32
Şekil 3.7. Koaksiyel prob ve VNA	33
Şekil 3.8. Koaksiyel probun kalibrasyon işlemi	34
Şekil 3.9. Hücre kültürü bulunan flask	34
Şekil 3.10. Hücre kazıyıcı ile flask tabanına yapışan hücrelerin kazınması işlemi.....	35
Şekil 3.11. 1000 µg/ml doz ve 24 saat inkübasyona sahip kültürün falkon tüp görüntüsü	36
Şekil 3.12. Hücre kültürünün koaksiyel prob ile dielektrik özellik ölçümü.....	37
Şekil 3.13. ϵ' değerinin VNA ekranında görünümü	37
Şekil 3.14. Tüm numunelerin ϵ' ölçüm grafiği.....	38
Şekil 3.15. Dalga kılavuzu ölçümü.....	39
Şekil 3.16. (a) SRR tabanlı sensör yapısı ve (b) eşdeğer devre şeması	42
Şekil 3.17. SRR sensörün ön yüz tasarımı.....	44
Şekil 3.18. S21 grafiği	44
Şekil 3.19. S11 grafiği	45
Şekil 3.20. Port sinyal grafiği	46
Şekil 3.21. Tüm portlardan çıkan güç ve kabul edilen güç grafiği.....	47
Şekil 3.22. Port (a) akım ve (b) gerilim grafikleri	47
Şekil 3.23. Simülasyon ve ölçüm S21 sonuçlarının karşılaştırılması.....	48
Şekil 3.24. (a) 1,403 GHz ve (b) 2,565 GHz rezonans frekanslarında elektrik alan dağılımları.....	49
Şekil 3.25. Kullanılan PCB kazıma makinesi.....	50
Şekil 3.26. Kullanılan PCB lazer işleme makinesi.....	50
Şekil 3.27. Üretimi tamamlanan SMA konnektörsüz ve konnektörlü sensörler	51
Şekil 3.28. Keysight N5234A VNA	52
Şekil 3.29. R&S ZVA50 VNA	53
Şekil 3.30. Sensör ölçüm düzeneği.....	54
Şekil 3.31. Boş sensör S21 sonuç grafiği	55
Şekil 3.32. R&S ZVA50 VNA kalibrasyon kiti	56
Şekil 3.33. VNA bağlantısı yapılmış ve numune içeren ölçüme hazır biyosensör	56
Şekil 3.34. VNA ekranından S21 sonuç grafiği	57
Şekil 3.35. İkinci ölçüm boş sensör S21 sonucu	57
Şekil 3.36. (a) Countess II cihazı ve (b) kaset	58
Şekil 3.37. MTT canlılık analizi yapılan spektrofotometre.....	59
Şekil 4.1. Dalga kılavuzu ölçüm sonucu S21 grafiği	66
Şekil 4.2. Kontrol numunesi S21 sonuç grafiği.....	69
Şekil 4.3. Farklı numunelerin SRR biyosensör ile ölçümünden S21 sonuçları.....	69
Şekil 4.4. İkinci ölçüm boş sensör S21 sonucu	71
Şekil 4.5. İkinci ölçüm kontrol numunesi S21 sonucu	72
Şekil 4.6. İkinci ölçüm medium S21 sonucu	73
Şekil 4.7. İkinci ölçüm 1000 µg/ml-72h ile medium S21 kıyaslaması.....	74
Şekil 4.8. 48h ve 72h numunelerin S21 sonuçlarının 1,4 GHz rezonans çevresindeki gösterimi	75

Şekil 4.9. 48h ve 72h numunelerin S21 sonuçlarının 2,6 GHz rezonans çevresindeki gösterimi	76
Şekil 4.10. 24h numunelerin S21 sonuçlarının 1,4 ve 2,6 GHz rezonans çevresindeki gösterimi	76
Şekil 4.11. MTT sonucu hesaplanan canlılık (viability) dağılımı	79
Şekil 4.12. PANC-1 hücrelerinin (a) 24 saat, (b) 48 saat ve (c) 72 saat boyunca Quercetin'in farklı dozlarına (0-1000 µg/ml) maruz kalması sonucu elde edilen MTT % canlılık ve dielektrik sabiti korelasyon grafikleri	81
Şekil 4.13. (a) 10 µg/ml, (b) 100 µg/ml, (c) 500 µg/ml, (d) 1000 µg/ml dozları uygulanmış hücre kültürlerinin sensör ölçümleri ile 1,4 GHz frekansında elde edilen S21 değerlerinin MTT canlılık testi sonuçları ile korelasyon grafikleri.....	83
Şekil 4.14. (a) 10 µg/ml, (b) 100 µg/ml, (c) 500 µg/ml, (d) 1000 µg/ml dozları uygulanmış hücre kültürlerinin sensör ölçümleri ile 2,6 GHz frekansında elde edilen S21 değerlerinin MTT canlılık testi sonuçları ile korelasyon grafikleri.....	85
Şekil 4.15. BxPC-3 10 µg/ml-24h mikroskop görüntüsü	86
Şekil 4.16. BxPC-3 500 µg/ml-48h mikroskop görüntüsü	87
Şekil 4.17. BxPC-3 1000 µg/ml-72h mikroskop görüntüsü	87

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 4.1. 1 GHz-20 GHz arasında tüm numunelerin ϵ' değerleri-1.....	63
Çizelge 4.2. 1 GHz-20 GHz arasında tüm numunelerin ϵ' değerleri-2.....	63
Çizelge 4.3. 1 GHz-20 GHz arasında kontrol ve 1000 $\mu\text{g/ml}$ -72h numunelerinin ϵ' farkları.....	65
Çizelge 4.4. Çeşitli numunelerin SRR sensör ile ölçüm sonucu elde edilen S21 ve frekans değerleri	70
Çizelge 4.5. Numunelerin kontrol numunesine göre frekans kaymaları ve S21 farkları	70
Çizelge 4.6. SRR biyosensör ölçümleri ile elde edilen sonuçlar.....	77
Çizelge 4.7. Numunelerin kontrol numunesine göre frekans ve S21 farkları	78
Çizelge 4.8. MTT sonucu hesaplanan canlılık (viability) yüzdeleri.....	80
Çizelge 4.9. MTT canlılık testi ile dielektrik ölçüm korelasyon sonuçları	81
Çizelge 4.10. MTT canlılık testi ile 1,4 GHz sensör ölçümü korelasyon sonuçları.....	83
Çizelge 4.11. MTT canlılık testi ile 2,6 GHz sensör ölçümü korelasyon sonuçları.....	85
Çizelge 4.12. Sınıflandırma algoritmalarının performanslarının karşılaştırılması	88
Çizelge 4.13. Farklı regresyon algoritmalarının SRR sensör verilerinden MTT % canlılık değerini tahmin etme performansı	90
Çizelge 4.14. Farklı gürültü azaltma yöntemlerinin SNR üzerindeki ortalama kazancı ve rezonans sapması	92

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

SİMGELER

C	Kapasitans
F	Frekans
L	Endüktans
P	İstatistiksel anlamlılık
R	Pearson Korelasyon Katsayısı
S11	Yansıma Katsayısı
S21	İletim Katsayısı
ϵ	Kompleks Permitivite
ϵ'	Dielektrik Sabiti
ϵ''	Dielektrik Kayıp Faktörü
tan δ	Kayıp Tanjantı

KISALTMALAR

AI	Yapay Zeka (Artificial Intelligence)
ANOVA	Varyans Analizi (Analysis of Variance)
ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection)
CSRR	Complementary Split Ring Resonator
CWT	Sürekli Dalgacık Dönüşümü (Continuous Wavelet Transform)
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil Sülfoksit
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EM	Elektromanyetik
FBS	Fetal Buzağı Serumu (Fetal Bovine Serum)
FFT	Hızlı Fourier Dönüşümü (Fast Fourier Transform)
IC₅₀	Yarı Maksimal İnhibitör Konsantrasyonu
LSPR	Lokalize Yüzey Plazmon Rezonansı
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
OD	Optik Yoğunluk (Optical Density)
PCB	Baskılı Devre Kartı (Printed Circuit Board)
SAW	Yüzey Akustik Dalgası (Surface Acoustic Wave)
SNR	Sinyal-Gürültü Oranı (Signal-to-Noise Ratio)
SPR	Yüzey Plazmon Rezonansı
SRR	Ayrık Halka Rezonatör (Split Ring Resonator)
STFT	Kısa Zamanlı Fourier Dönüşümü (Short-Time Fourier Transform)
TEM	Enine Elektromanyetik (Transverse Electromagnetic)
THz	Terahertz
VNA	Vektör Network Analizör (Vector Network Analyzer)
WST	Suda Çözünür Tetrazolyum (Water Soluble Tetrazolium)
XTT	2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide

1. GİRİŞ

Giriş bölümünde ilk olarak çalışmanın motivasyonu ve kanser araştırmalarındaki problemin boyutu belirtilecektir. Ardından, kanser biyolojisinde hücre canlılığı ölçümünün kritik rolü, bu ölçüm için kullanılan geleneksel yöntemler ve bu yöntemlerin sınırlılıkları sunulacaktır. Takiben, bu sınırlılıklara alternatif olarak önerilen elektromanyetik tabanlı biyosensör yaklaşımları incelenecek ve son olarak bu çalışmanın literatürde doldurduğu spesifik araştırma boşluğu ve tezin bilime sunduğu özgün katkılar tanımlanacaktır.

Problem, amaç ve motivasyon

Kanser, modern tıbbın en önemli küresel sağlık sorunlarından biri olarak hem ölüm oranı hem de yaşam kalitesinin belirleyicisi olmaya devam ediyor. Küresel Kanser Gözlemevi GLOBOCAN'ın 185 ülkede 36 kanser türü için 2020 verilerine göre dünya çapında yaklaşık 19,3 milyon yeni kanser vakası kaydedilmiş ve 10 milyonun üzerinde kişi kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir (Sung vd., 2021). Bu yük yalnızca bireysel sağlıkla sınırlı kalmayıp sağlık sistemleri, ekonomik kaynaklar ve toplum refahı üzerinde de ciddi baskılar oluşturmaktadır. Kanserın erken tanısı ve tedavi etkinliğinin hassas izlenmesi, birçok ülkede yaşam süresi ve tedavi maliyetleri açısından kritik rol oynamaktadır.

Türkiye özelinde de kanser yükü giderek artmaktadır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (The International Agency for Research on Cancer-IARC) CanScreen5 verilerine göre Türkiye'nin genel kanser insidans oranı 225,9/100.000 kişi/yıl civarındadır. Genel kanser ölüm oranı ise yaklaşık 116,1/100.000 kişi/yıl şeklinde bildirilmiştir (Ferlay vd., 2024). Tüm Türkiye genelinde eş zamanlı yapılan çalışmalar da benzer düzeyde yüksek vaka sayıları göstermektedir: 2022 yılında Türkiye'de yaklaşık 227.310 yeni kanser olgusu olduğu ve bu olgulardan 125.788'inin ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir (Eser vd., 2023). Ayrıca 2018 yılında Türkiye'de 211.273 yeni kanser vakası ve 116.710 kanser kaynaklı ölüm gerçekleştiği raporlanmaktadır ve Türkiye'de ölümlerin altıda biri kanser türleri sebebiyle gerçekleşmektedir (Tozduman ve Ergor, 2025). Türkiye'de erkeklerde en sık görülen kanser tipi akciğer kanseri, kadınlarda ise meme kanseri olma eğilimindedir (Ferlay vd., 2024). Bu veriler, Türkiye gibi orta-üst gelirli ülkelerde de kanserin yaygınlığının yüksek olduğunu ve erken tanı yöntemlerinin büyük önem kazandığını göstermektedir.

Pankreas kanseri, genellikle geç evrede teşhis edilen, agresif seyirli ve ölüm oranı yüksek bir kanser türüdür. Erken tanı ve tedavi şansı düşük olduğu için beş yıllık sağkalım oranı %10'un altındadır (Mizrahi vd., 2020). Pankreas kanseri, dünya genelinde kanser ölümlerinde ilk sıralarda yer alır ve insidansı giderek artmaktadır.

Araştırmalar, kanser tedavisinde yeni moleküler ilaçların, immün terapi yaklaşımlarının ve kombinasyon tedavilerinin başarısının, hücre popülasyonlarına, canlı hücre oranlarına ve hücre tepkisine bağlı olduğunu göstermektedir (Islam vd., 2018; Rochigneux vd., 2020; H. Zhang vd., 2024). Bu nedenle laboratuvar çalışmalarında hücre sayımı ve canlılık ölçümü, ilaç adaylarının etkinliğini, doza bağımlı etkilerini ve biyolojik mekanizmalarını değerlendirmede ciddi öneme sahiptir.

MTT, XTT, WST, Resazurin, Trypan Blue gibi klasik canlılık değerlendirme yöntemlerinin çeşitli sınırlılıkları bulunur. Bu sınırlılıklara, uzun inkübasyon süreleri, kullanıcı bağımlılığı, kontaminasyon riski, hücrelerin ayırt edilememesi, reaktif maliyeti, geçerli ölçüm aralığı sınırlamaları ve ölçüm sonrası hücrelerin kullanılamaz hale gelmesi gösterilebilir (Avnet vd., 2024; Bell vd., 2022; Cadena-Herrera vd., 2015; Imashiro vd., 2020; Piccinini vd., 2017; Riss vd., 2004). Bu sınırlamalar bilhassa yüksek verimli ilaç tarama sistemlerinde, gerçek zamanlı izleme gerektiren uygulamalarda veya hücre dinamiklerinin izlenmesinde darboğaz oluşturur. Bu yüzden etiketsiz, non-invaziv, hızlı, küçük hacimde çalışabilen ve tekrarlanabilir ölçümlere izin veren alternatif yöntemler büyük önem kazanır. Mikrodalga/RF tabanlı sensörler, numunenin elektromanyetik özelliklerindeki değişimleri tespit ederek ölçüm yapma kabiliyeti sayesinde alternatif bir yöntem olma potansiyeline sahiptir (Amanati Shahri vd., 2022; Secme vd., 2023; Zhao vd., 2024).

Bu tez çalışmasının amacı, PANC-1 ve BxPC-3 pankreas kanseri hücre hatlarında bir sitotoksik ajan olan Quercetin kaynaklı hücre canlılığı tespiti yapabilmek için Split Ring Resonator (SRR) temelli bir mikrodalga biyosensör tasarlamak, üretmek, deneysel verilerle karakterize etmek ve sonuçlarını geleneksel canlılık yöntemi ve altın standart olan MTT ile karşılaştırarak doğrulamaktır. Böylece, biyosensör teknolojileri ile kanser araştırmalarının bulunduğu bir köprü kurulacak, sensör tasarımının biyolojik ortamlarla uyumu ve ölçüm güvenilirliği ortaya konacaktır. Bu tez, biyosensörlerin yalnızca kanserli hücre tespitinde değil sitotoksisite testleri sonucu değişen hücre sayısının algılanmasında da kullanılabileceğini gösterecektir. Ayrıca, çalışmada ham sensör verilerini işlemek ve sitotoksisite seviyelerini otomatik olarak sınıflandırmak için Yapay Zeka (AI) ve Makine Öğrenmesi (ML) modellerini de içeren bütüncül bir metodoloji sunulmaktadır.

Kanser araştırmalarında hücre canlılığı değerlendirilmesinin rolü

Hücre canlılığı/sayımı yalnızca niceliksel metrik değildir. Özellikle onkoloji ve ilaç geliştirme alanında kritik bir değerlendirme aracıdır. Hücre proliferasyonu, apoptoz/nekroz oranları, tedavi yanıtları ve doz-yanıt eğrileri hücre sayımı ölçümlerine dayalıdır. Bir sitotoksik molekülün yarı etkin doz (IC_{50}) değeri, farklı hücre yoğunluklarında canlı hücre yüzdesi ölçümleri ile çıkarılır (Damiani vd., 2019; Lyles vd., 2008). Aynı zamanda kombinasyon tedavileri, sinerjistik veya antagonistik etkiler, yayılan direnç gelişimleri gibi parametreler de hücre sayım yöntemi ile incelenir (Aissa vd., 2021; Nashebi vd., 2024). Hücre sayımı tedavi etkinliğinin yanı sıra ilaç toksisitesinin ve tedaviye bağlı yan etkilerin değerlendirilmesinde de kritik öneme sahiptir. Doz-cevap eğrilerinden elde edilen veriler kullanılarak yeni ilaç kombinasyonlarının klinik denemeler öncesi daha güvenilir şekilde seğilmesi sağlanabilir (Fuentealba-Manosalva vd., 2023).

Geleneksel hücre canlılığı değerlendirme yöntemleri ve sınırlılıkları

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi, hücre kültürlerinde canlı hücre yoğunluğunu ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir kolorimetrik yöntemdir. Bu test, hücrelerin metabolik aktivitesine dayalı olarak canlı hücrelerin miktarını dolaylı şekilde belirler. Testin doğruluğu ve güvenilirliği bazı koşullara ve sınırlamalara bağlıdır. MTT testi, canlı hücrelerin mitokondriyal enzimleriyle MTT adlı tetrazolyum tuzunun mor formazana indirgenmesine dayanır. Oluşan formazan miktarı, optik yoğunluk ölçümüyle hücre sayısı ile orantılı olarak belirlenir. Yöntem, proliferasyon, sitotoksisite ve canlılık analizlerinde yaygın olarak kullanılır. MTT testi, uygun koşullarda hücre sayısı ile lineer bir ilişki sunar ancak testin doğruluğu hücre tipi, ortam bileşimi ve metabolik aktiviteye bağlı olarak değişebilir (Ciapetti vd., 1993; Ghasemi vd., 2021; Stockert vd., 2012; Twentyman ve Luscombe, 1987; Van Tonder vd., 2015).

Hücre canlılık değerlendirmesi için kullanılan XTT (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide) testi, metabolik aktiviteye dayalı, renk değişimiyle çalışan bir kolorimetrik analizdir. XTT tuzu, canlı hücrelerin metabolizmasıyla suda çözünebilen turuncu formazana indirgenir. Oluşan renk değişimi, absorbans ölçümüyle nicel olarak belirlenir ve doğrudan canlı hücre sayısı ile orantılıdır. Bu yöntem özellikle sitotoksisite, ilaç duyarlılığı ve hücre proliferasyonu gibi

uygulamalarda canlı hücrelerin miktarını ölçmek için tercih edilir. Ancak XTT'nin sinyal gücü düşük hücre yoğunluklarında zayıf olabilir. Ayrıca referans sinyal doğruluğu bazı sistemlerde sorun çıkarabilir. XTT testi, hücre canlılığını ve çoğalmasını dolaylı olarak ölçer; doğrudan hücre sayımı için uygun değildir fakat çoğu uygulamada güvenilir bir alternatif yöntemdir (Meshulam vd., 1995; Weir vd., 2022; C. Zhang, 1970).

Suda Çözünür Tetrazolium (Water Soluble Tetrazolium-WST) temelli testler, canlı hücrelerin metabolik aktivitesine dayalı olarak hızlı ve pratik sonuçlar sunar. Bu yöntemler hem 2D hem de 3D kültürlerde hücre canlılığını ve sayısını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Hücrelerin mitokondriyal aktivitesine bağlı olarak renk değişimiyle ölçüm yapar. Uç nokta olması ve kimyasal reaktif gereksinimi gibi kısıtlamalara sahiptir (J. Fan vd., 2024; Martin vd., 2024; Oner vd., 2023).

Resazurin tabanlı testler mavi, non-fluoresan resazurin molekülünün metabolik aktiviteyle pembe, floresan resorufin formuna indirgenmesini esas alır. Bu testin avantajları arasında hem absorbans hem de floresans okuma imkânı, düşük hücre hasarı, kinetik ölçüm yapılabilmesi ve hücre lizati gerektirmemesi sayılabilir. Lavogina ve ark. tarafından yapılan bir derlemede resazurin temelli testlerin optimizasyonu, sinyal-lineerite aralığı ve belirsizlik değerlendirmeleri üzerine standartlaştırılmış protokoller önerilmiştir (Lavogina vd., 2022). Petiti ve ark. A549 hücre hattı için standartlaştırılmış resazurin protokolü yayınlamıştır (Petiti, Caria, vd., 2024). Resazurin testlerinin bazı dezavantajları vardır: çok yüksek hücre yoğunlukları sinyal doygunluğuna ulaşabilir, örneklerin pH ya da ortam bileşimi indirgeme dinamiklerini etkileyebilir ve ölçüm süresi ile inkübasyon süresi optimizasyonu gerektirir (Petiti, Revel, vd., 2024).

Trypan Blue boyama, hücre zar bütünlüğüne dayalı olarak canlı ve ölü hücreleri ayırır, hızlıdır ama manuel mikroskop sayımı gerektirir ve kullanıcı bağımlılığı yüksektir. Trypan Blue, canlı hücrelerin sağlam zarları tarafından dışarıda tutulurken ölü veya zar bütünlüğü bozulmuş hücrelere kolayca girer ve onları maviye boyar. Bu sayede mikroskop altında canlı (boyasız) ve ölü (mavi) hücreler kolayca ayırt edilebilir. Yöntem hızlıdır ve genellikle hemositometre ile manuel olarak uygulanır (Cosentino vd., 2020; Crowley vd., 2016; Strober, 1997).

Luminometrik ATP ölçümleri, hücre metabolizmasından kaynaklanan ATP seviyesini ölçerek hücre canlılığını belirler ancak ATP stabilitesi, ortam koşulları ve kit maliyeti gibi sınırlamaları vardır (Kamiloglu vd., 2020; Karimi vd., 2022).

Yöntemlerin çoğu kimyasal reaktif gerektirir, uç nokta özelliği taşır ve hücelere zarar verebilir. Bu durum, non-invaziv, etiket gerektirmeyen fiziksel yöntemlerle tamamlayıcı araştırmaların önemini artırmaktadır.

Elektromanyetik tabanlı biyosensör yaklaşımları

Elektromanyetik (EM) sensörler, biyolojik numunelerin dielektrik özelliklerine bağlı olarak rezonans frekansında ve kayıplarında meydana gelen değişimleri yakalayabilir. Özellikle mikrodalga bantları biyolojik sıvılar için uygun duyarlılık ve penetrasyon kombinasyonu sunar. Planar rezonatörler PCB üzerinde kolay uygulanabilen, mikroakışkan entegrasyona uygun ve küçük hacimlerde çalışabilen yapılardır. Bu yapılar, rezonans alanını yerelleştirir; özellikle SRR/CSRR tasarımları dar boşluk bölgelerinde yoğun elektrik/manyetik alan konsantrasyonu sağlar. SRR yapısı, bir iletken halkanın bir kısmının kesik olduğu yapıdan oluşur. Metamalzeme literatüründe negatif manyetik geçirgenlik etkisi yaratmak için klasik yapı olarak kullanılır ancak biyosensör uygulamalarında da kullanılabilir. Boşluk çevresindeki lokal alan değişimlerine yüksek duyarlılık gösterebildiği için küçük dielektrik farklılıkların algılanabilmesini sağlar (Ebrahimi vd., 2014; Farrugia vd., 2025; Kazemi vd., 2021; Muñoz-Enano vd., 2020; Navaei vd., 2022; J. Wang vd., 2024).

Lee ve ark. planar SRR tabanlı mikrodalga biyosensörlerle biyomolekül tespiti yapmışlardır (H.-J. Lee vd., 2012). Alrayes ve ark. kanserli hücre hatlarını tespit edebilmek için SRR sensörler tasarlamış, deney ve simülasyon sonuçlarını karşılaştırmışlardır (Alrayes ve Hussein, 2021). Khalil ve ark. çok hassas SRR/CSRR kombinasyonlu bir biyosensör tasarlamış, gıda kalite kontrolünde kullanılabilirliğini göstermişlerdir, benzer mimariler biyomedikal tespitler için de adapte edilebilir (Khalil vd., 2025). Ayrıca, Dadouche ve ark. corona-shaped rezonatör yapısı ile yeni bir rezonatör tasarımı önererek biyobelirteç tespiti üzerine çalışmışlardır (Dadouche vd., 2023).

Araştırma boşluğu ve tezin özgün katkıları

Bahsi geçen literatür örnekleri mikrodalga tabanlı sensörlerin biyobelirteç ve sıvı karışım analizinde başarıyla uygulandığını göstermektedir. Kanser hücre kültürlerinde doğrudan canlı hücre oranı değerlendirmesi yapmayı amaçlayan, sensör çıktılarını MTT

gibi klasik yöntemlerle korelasyon analizine tabi tutan, simülasyon, deneysel validasyon, istatistiksel modelleme içeren kapsamlı bir çalışma sayıca sınırlıdır.

Bu tez çalışmasında hedeflenen özgün katkılar şunlardır:

Hücre kültürlerinin dielektrik ölçümleri: Hücre canlılığındaki değişim ile hücre süspansiyonlarının 1–20 GHz aralığındaki dielektrik özellikleri arasındaki ilişkinin deneysel olarak gösterilmesi ve bu verilerin sensör tasarımına doğrudan girdi olarak kullanılması.

Metamalzeme tabanlı mikrodalga biyosensör tasarımı ve üretimi: PANC-1, BxPC-3 pankreas kanseri hücre hatlarında Quercetin'e bağlı sitotoksiteyi izleyebilen çift modlu SRR tabanlı bir mikrodalga biyosensörün CST Studio Suite ortamında tasarlanması ve prototip üretimi.

Hücre kültürlerinde gerçek zamanlı ölçüm: Pankreas kanseri hücre kültürlerine entegre ölçümler yapılması; rezonans frekans ve bant genişliği kaymaları üzerinden hücre yoğunluğu/canlılık ilişkisi çıkarılması.

Klasik yöntem ile metodolojik karşılaştırma ve korelasyon analizi: Geliştirilen sensör sonuçlarının, altın standart MTT testi ile aynı numuneler üzerinden doğrulanması. Mikrodalga sensör–MTT–mikroskopi üçlü doğrulama yaklaşımı ile kanser hücre canlılığının elektromanyetik tabanlı izlenmesine yönelik bütüncül bir metodolojinin önerilmesi.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Tez çalışmasının multidisipliner yapısını yansıtacak şekilde temel kavramlar, teorik altyapı ve güncel literatür çalışmaları ele alınmıştır. Çalışmanın temel motivasyonunu oluşturan kanser araştırmalarındaki hücre canlılığı tespiti ihtiyacını ve mevcut çözümlerin sınırlarını anlamak amacıyla öncelikle geleneksel yöntemler incelenmiştir. Ardından, önerilen mikrodalga biyosensör sisteminin fiziksel çalışma prensibini oluşturan elektromanyetik dalga ve biyolojik dokuların dielektrik özellikleri detaylandırılmıştır. Biyosensörler ve metamateryal tabanlı yapılar üzerine yapılan güncel çalışmalar özetlenmiştir. Bu bölüm, tezin özgün katkısının hangi bilimsel temeller üzerine oluşturulduğunu ortaya koymayı amaçlamaktadır.

2.1. Hücre Kültürü Çalışmalarında Kullanılan Geleneksel Hücre Canlılığı Değerlendirme Yöntemleri

Kanser araştırmaları, ilaç geliştirme gibi alanlarda, hücre popülasyonlarının durumu hakkında bilgi edinmek esastır. Hücre sayımı ve hücre canlılığı (viability) analizi, bu bilgiyi sağlayan iki temel laboratuvar prosedürüdür. Hücre sayımı, birim hacimdeki toplam hücre adedini belirlerken, hücre canlılığı analizi bu popülasyon içindeki sağlıklı ve metabolik olarak aktif hücrelerin oranını veya sayısını belirler (Piccinini vd., 2017).

Direkt sayım yöntemleri hücrelerin fiziksel olarak sayılmasına dayanmaktadır. Temel ve yaygın yöntem, bir mikroskop altında hemositometre kullanmaktır. Bu yöntemde, bilinen bir hacimdeki hücreler manuel olarak sayılır. Genellikle, hücre zar bütünlüğünü test etmek için Tripan Mavis gibi bir boya kullanılır. İndirekt yöntemler, hücrelerin fiziksel varlığını saymak yerine, onların canlılık göstergelerini ölçer. Bu göstergeler genellikle metabolik aktivite veya hücre zarı bütünlüğü olur. Bu yöntemler, genellikle bir spektrofotometre veya florometre kullanılarak gerçekleştirilir. Özel bir kimyasal maddenin canlı hücreler tarafından renkli (kolorimetrik) veya floresan (florometrik) bir ürüne dönüştürülmesi prensibine dayanan yöntemlerdir. Ölçülen sinyalin yoğunluğu, numunedeki canlı hücre sayısı ile doğru orantılı kabul edilir. Bu kategorideki en yaygın testler arasında Resazurin, XTT, WST-1 ve bu tez çalışmasında doğrulama yöntemi olarak kullanılan MTT analizi bulunur (Kamiloglu vd., 2020; Posimo vd., 2014; van Meerloo vd., 2011).

Hücre canlılık analizi için spektrofotometre tekniği kullanılan ELISA cihazı olarak da bilinen mikropalak okuyucu yaygın kullanılmaktadır (Borra vd., 2009).

Spektrofotometre, temelde maddenin ışığı ne kadar emdiğini veya geçirdiğini ölçen bir laboratuvar cihazıdır. Mantığı Beer-Lambert yasasına dayanır. Emilen ışık miktarı, çözeltideki madde miktarıyla doğru orantılıdır (Akash ve Rehman, 2020).

2.1.1. MTT testi

MTT testi, hücre canlılığını değerlendirmek amacıyla en yaygın kullanılan kolorimetrik yöntemlerden biridir. İlk kez Mosmann tarafından tanımlanmıştır ve kısa sürede hücre biyolojisi ve farmakoloji alanlarında standart hale gelmiştir (Ferrari vd., 1990; Mosmann, 1983; J. Sargent ve Taylor, 1989). Testin temel prensibi mitokondriyal dehidrogenaz enzimlerinin sarı renkteki 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) tuzunu mor renkli formazan kristallerine indirgemesidir. Canlı hücreler bu indirgeme reaksiyonunu gerçekleştirirken, ölü hücreler reaksiyona katılamaz. Ortaya çıkan formazan kristalleri çözülerek spektrofotometre ile ölçülür ve optik yoğunluk değerleri canlı hücre sayısı ile doğru orantılı kabul edilir (Ghasemi vd., 2021; Kumar vd., 2018; J. M. Sargent, 2003; Stockert vd., 2012). MTT testlerinin bazı avantajları şu şekilde sıralanabilir; basit ve yaygın olması, çok sayıda numunenin aynı anda ölçülebilmesi, ilaç sitotoksitesi, proliferasyon, IC₅₀ belirleme gibi farmakolojik çalışmalarda uluslararası standart yöntem olarak kabul edilmesidir (Aslantürk, 2018; Buranaamnuay, 2021; Ghasemi vd., 2023; Van Tonder vd., 2015). Avantajlarının yanı sıra dezavantajlı olduğu ve sınırlılıkları bulunan yönleri sıralanmıştır: MTT uç nokta bir testtir yani hücrelerin dinamik süreçlerini gerçek zamanlı olarak izlemeye uygun değildir, formazan kristalleri çözünmez yapıda olduğundan ek çözme basamağı gerektirir ve ölçüm hatalarına neden olabilir, hücre tipine ve metabolik aktiviteye bağlı farklılıklar oluşabilir, aynı canlı hücre yoğunluğu için değişken sonuçlar üretebilir, mitokondriyal aktivitesi düşük fakat canlı olan hücreler yanlış negatif olarak değerlendirilebilir (Mani ve Swargiary, 2023; Mazlumoğlu, 2023; Ramasamy ve Pakshirajan, 2022).

MTT testinde elde edilen sonuçların doğruluğu pek çok parametreye bağlıdır:

Hücre yoğunluğu ve sayısı: Çok düşük hücre yoğunluğunda sinyal gürültüsü artar, çok yüksek yoğunlukta ise absorbans doygunluğa ulaşır. Farklı hücre tipleri ve tohumlama yoğunlukları MTT indirgeme kapasitesini değiştirir (Carreño vd., 2021; Sylvester, 2011; P. Wang vd., 2010).

İnkübasyon süresi: Yetersiz süre formazan oluşumunu azaltırken fazla süre metabolik stres yaratabilir (Ghasemi vd., 2021).

Çözücü seçimi: Formazan çözünürlüğü kullanılan solvente bağlıdır; DMSO, izopropanol veya asitlenmiş izopropanol tercih edilebilir fakat her birinin optik arka planı farklıdır (Babacan vd., 2022; Grela vd., 2015; van Meerloo vd., 2011).

İlaç etkisi: Bazı ilaçlar hücre metabolizmasını doğrudan etkileyerek hücre ölümü olmaksızın MTT sinyalini düşürebilir (Hoogstraten vd., 2022; Sazonova vd., 2022).

Teknik uygulama ve yorumlama: Plakalar arası farklılıklar, araştırmacılar arası gözlem farklılıkları ve optik yoğunluk ölçüm sıcaklığı gibi teknik detaylar da sonuçların tekrarlanabilirliğini etkiler (Kessel, 2025; Larsson vd., 2020).

Bu tezde MTT yöntemi sensör validasyonu için referans yöntem olarak kullanılmıştır.

2.1.2. MTT'nin kanser araştırmalarındaki rolü

MTT testi, özellikle kanser araştırmalarında sitotoksosite ve proliferasyon ölçümlerinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. İlaç adaylarının yarı maksimal inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}) genellikle MTT verileri üzerinden hesaplanır. Orijinal adaptasyonları çoklu ilaç ve doz-zaman değişkenlerinin paralel testine olanak sağlayarak hücre hattı kemosenitivite çalışmalarında kullanılabilir hale getirmiştir (Cole, 1986). Akciğer, meme, over, prostat ve hematolojik kanserlerde MTT testiyle yapılan çalışmalar farklı ilaçların etkinliğini ve hücrelerin direnç mekanizmalarını incelemiştir (Campling vd., 1991; Cole, 1986; J. M. Sargent, 2003; Xu vd., 1999). Liu ve ark. BxPC-3 ve COLO-357 pankreas kanseri hücre hatlarında gemcitabine'nin MTT ile ölçülen etki-doz ilişkileri incelenmiş ve IC_{50} değerleri belirtilmiştir (F. Liu vd., 2014). Klinik örneklerden elde edilen taze tümör hücrelerinde *in vitro* duyarlılığın ölçülmesi ve bazı çalışmalarda *in vivo* yanıtla korelasyon bulunması MTT'nin klinik fayda potansiyelini göstermiştir (J. M. Sargent, 2003; Wilson vd., 1990). Bahsedilen ve benzeri çalışmalar MTT'nin klinik öncesi ilaç testlerinde karar mekanizmalarının temelini oluşturduğunu göstermektedir. Ancak burada en önemli sorun, testin metabolik aktiviteye bağımlı olmasıdır. Kanser hücreleri heterojen yapıları gereği farklı metabolik hızlar gösterebilir. Bu durum hipoksik tümör mikro çevresinde yanlış sonuçlara yol açabilir (Emami Nejad vd., 2021; Moldogazieva vd., 2020; Tong vd., 2020). MTT testi, insan pankreas kanseri hücre hattı olan PANC-1 hücrelerinde çeşitli ajanların sitotoksik ve antiproliferatif etkilerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmıştır. Test, ajanların doz ve zamana bağlı

olarak hücre canlılığını azalttığını göstermektedir (Elijah ve Chukwuemeka, 2023; Lou ve Loh, 2022; Skaraitė vd., 2023).

2.1.3. MTT ve yeni nesil yöntemlerin karşılaştırılması

MTT testi klasik bir son nokta testi iken modern sistemler, canlı hücrelerin proliferasyonu zaman içinde izlemek gibi daha dinamik izleme sağlamaktadır. Lüminesans ve görüntüleme tabanlı yaklaşımlar gibi yeni yöntemler daha yüksek hassasiyet, daha düşük bozulma ve interferans sunabilir. Yüksek içerikli görüntüleme yöntemleri sadece canlılığı değil hücre morfoloji, organel durumu, stres yanıtı gibi çoklu bilgiyi aynı anda verebilir. Çeşitli üstünlükler sağlamalarının yanı sıra her yeni yöntem her durumda uygulanabilir değildir. Bazı hücre tipleri görüntüleme için uygun olmayabilir, bazı bileşikler lüminesans sistemi bozabilir ve cihaz maliyeti, analiz yazılımları gerekliliği gibi dezavantajları vardır. Birçok çalışmada MTT sonuçları ile modern yöntemler arasında korelasyon incelenmiştir; bazı durumlarda MTT, düşük sinyalde ya da interferanslı koşullarda yanıltıcı olabilmektedir (Beloglazova vd., 2021; Cai vd., 2019; Chiaravalli ve Glickman, 2017; Dahlin vd., 2004; Jensen, 2013; Madorran vd., 2024).

Yapılan çeşitli çalışmalar MTT'nin bazı durumlarda hücre canlılığını olduğundan farklı gösterebildiğini ortaya koymuştur. Fotakis ve Timbrell'in hepatoma hücre hatlarında yaptığı karşılaştırmalı çalışmada MTT testi ve LDH salınım testi farklı zaman noktalarında ve farklı kadmiyum klorür konsantrasyonlarında uygulanmıştır. Sonuçlar, MTT ve LDH testlerinin sitotoksositeyi tespit etmede farklı hassasiyetlere sahip olduğunu göstermiştir. MTT testinin LDH salınım testine göre daha yüksek canlılık değerleri verdiği ve bazı erken hücre hasarı olaylarını gözden kaçırabildiği belirtilmiştir (Fotakis ve Timbrell, 2006).

MTT testi, kanser araştırmalarında hücre canlılığını değerlendirmek için uzun yıllardır kullanılan ve güvenilirliği yüksek bir yöntemdir. Ancak bu yöntemin tamamen kusursuz olduğu söylenemez. Test, hücrelerin metabolik aktivitelerine bağımlı olduğu için bazı koşullarda yanıltıcı sonuçlar verebilir. Uç nokta ölçümüne dayalı olması ve farklı hücre tiplerinde değişken yanıtlar üretmesi de dikkat edilmesi gereken sınırlılıklar arasındadır. Bu nedenle, elde edilen verilerin başka yöntemlerle desteklenmesi genellikle gerekli görülmektedir. Çalışmamızda, mikrodalga biyosensör aracılığıyla elde edilen

bulguların altın standart MTT testiyle karşılaştırılması, yeni yaklaşımın geçerliliğini göstermek açısından kritik bir adımdır. Literatürde standart kabul gören bir yöntem olan MTT'nin referans alınması, sensörümüzün performansını değerlendirmek için sağlam bir kıyaslama zemini oluşturmaktadır. Böylece çalışmamız yalnızca yeni bir sensör tasarlamakla sınırlı kalmayacak; aynı zamanda bu sensörün klasik biyolojik yöntemlerle güçlü bir uyum gösterdiğini ortaya koyarak gelecekte güvenilir bir alternatif olabileceğini de kanıtlayacaktır.

2.1.4. XTT testi

XTT (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide) testi, MTT'nin dezavantajlarını aşabilmek için geliştirilmiş metabolik aktiviteye dayalı bir diğer kolorimetrik yöntemdir. XTT, hücrel dehidrogenazlar tarafından suda çözünebilir turuncu formazana dönüştürülür. Spektrofotometrik olarak görüntüleme ve ölçme sağlar. Yüksek verimlilik ihtiyacı olan analizler için tercih edilebilir. Sadece canlı hücreler ile reaksiyon gerçekleştirir. Düşük hücre yoğunluklarında bile güvenilir sonuçlar verir. Test ile elde edilen sonuçlar daha stabildir ve tekrarlanabilirliği yüksektir. MTT testine göre XTT testinin reaktifi daha pahalıdır ve bazı hücre tiplerinde indirgenme verimliliği farklılık gösterebilir (Demirkalp, 2025; Riss vd., 2011; S. Wang vd., 2011; Yıldırım vd., 2025).

Literatürde; XTT ile antifungal etkinlik kantitatif olarak ölçülmüş ve farklı immün hücrelerle uyulanabilir olduğu gösterilmiştir (Loures ve Levitz, 2015). XTT'nin MTT'ye göre daha hassas olduğu ancak tüm hücre tipleri için uygun olmadığı belirtilmiştir (Shokrzadeh ve Modanloo, 2017). Çözünür ürün vermesi sebebiyle MTT'ye göre kullanıcı dostudur. Fakat Alamar Blue'ya kıyasla hassasiyet oranı düşüktür. Antifungal testler, biyofilm çalışmaları ve 3D kültürlerde tercih edilmektedir. (Koyanagi vd., 2016; J.-H. Lee vd., 2024; Ramage vd., 2001).

2.1.5. WST tabanlı testler

Suda çözünür tetrazolyum (Water Soluble Tetrazolium-WST) tabanlı testler, özellikle WST-1 ve WST-8, hücre canlılığı ve sayımı için yaygın olarak kullanılan kolorimetrik analizlerdir. Hücrelerin metabolik aktivitesini ölçerek canlı hücre sayısının hızlıca belirlenmesini sağlar. Hücrelerin metabolik aktivitesine bağlı olarak tetrazolyum tuzlarının suda çözünebilir formazana indirgenmesi prensibine dayanır. 2D ve 3D hücre

kültürlerinde ölçüme uygundur. Toksik bir yapısı olmamasından dolayı hücrelerle sonraki deneyler de yapılabilir (Chamchoy vd., 2019; J. Fan vd., 2024; Guertler vd., 2011; Koyanagi vd., 2016; Lutter vd., 2017; Oner vd., 2023; Präbst vd., 2017).

WST tabanlı testler PANC-1 hücrelerinin canlılığını ölçmek için kullanılmıştır. Polimer temelli ilaç taşıyıcılarının toksisitesini değerlendirmek için WST-1 ile ölçümler yapılmıştır ve polimerlerin düşük konsantrasyonlarda toksik olmadığı, yüksek konsantrasyonlarda hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (Li vd., 2016). Yapılan bir çalışmada gelişmiş glikasyon son ürünlerinin PANC-1 hücrelerinde oluşturduğu proliferasyon değişiklikleri, WST-8 testiyle kantitatif değerlendirilmiştir ve doz bağımlı hücre ölümü tespit edilmiştir (Takata vd., 2017). Bir diğer çalışmada, WST-1 kullanılarak PANC-1 ve MIA PaCa-2 hücrelerinin proliferatif kapasitesi karşılaştırılmıştır. WST testi sadece canlılık verisi sağlamakla kalmamıştır ve hücre hattının farmakolojik hedeflenebilirliği hakkında veri üretmiştir (Gradiz vd., 2016).

2.1.6. Resazurin testi

Resazurin (Alamar Blue) temelli testler, hücre metabolizmasına bağlı redoks dönüşümleri ölçmek için kullanılan floresan/absorbans tabanlı yöntemlerdir. Canlı hücrelerde resazurin, pembe floresan resorufine indirgenir. Resazurin testleri hücreleri öldürmez böylece aynı kültür üzerinde zaman serisine bağlı ölçümler alınabilir. Non-invazivdir, kinetik ölçümlere olanak tanır ve düşük hücre yoğunluklarında dahi yüksek sinyal alınabilir (Lavogina vd., 2022; Petiti, Revel, vd., 2024; Rampersad, 2012a, 2012b). Petiti ve ark. A549 hücrelerinde resazurin temelli canlılık testini standartlaştırmayı amaçlamaktadır (Petiti, Caria, vd., 2024). Ancak çok yüksek hücre yoğunluğunda sinyal doygunluğu oluşabilir (Lavogina vd., 2022; Petiti, Revel, vd., 2024).

2.1.7. Trypan blue boyama

Trypan Blue (Trypan Mavis), hücre zar bütünlüğünü değerlendiren klasik yöntemlerden bir tanesidir. Canlı hücreler boyayı tutmazlar fakat ölü hücreler maviye boyanır ve mikroskop altında sayılır. Boyanma durumuna göre canlı ve ölü hücre ayrımı ve sayımı yapılabilir. Sayımın manuel yapılıyor olması kullanıcı bağımlılığı ve subjektif farklılıklar oluşturmaktadır (J. S. Kim vd., 2011; Strober, 2015). Boyanmış hücrelerin kültürde yeniden kullanımı mümkün değildir yani uç nokta ölçüm yöntemidir. Bazı kaynaklarda boyanın hücreler üzerinde toksik etkisi olabileceği ve uzun inkübasyon

sürelerinin canlı hücreleri de etkileyebileceği belirtilmiştir (Riss vd., 2004; Strober, 1997). Ölü hücreler boyama sırasında morfolojik olarak dağılabilir bu yüzden canlılık %80'in altına düştüğünde test doğruluğunu kaybedebilir ve canlılık oranını olduğundan yüksek gösterebilir (Chan vd., 2020; Tennant, 1964).

2.1.8. ATP bazlı testler

Adenozin Trifosfat (ATP), hücre metabolizmasının temel enerji göstergesidir ve canlılık analizlerinde de kullanılmaktadır. Luminesans temelli sistemlerde luciferaz-ATP reaksiyonu kullanılarak hızlı ve yüksek hassasiyetli ölçümler yapılabilmektedir. Reaksiyon sırasında yayılan ışık ATP miktarıyla orantılıdır (Crouch vd., 1993; Kawabe ve Uchiho, 2020; Morciano vd., 2017; Serain vd., 2025). ATP stabilitesi düşük olduğundan ölçüm koşulları ve numune işleme süreleri sonuca doğrudan etki etmektedir (Riss vd., 2004). ATP bazlı testler, MTT, XTT ve trypan blue gibi klasik yöntemlere göre çok daha hassas ve tekrarlanabilir sonuçlar verir. Özellikle düşük hücre sayılarında ve hızlı taramalarda ATP testi kullanmak avantajlıdır (Adan vd., 2016; Nowak vd., 2018).

Literatür örnekleri verilen bu yöntemlerin tümü hücre canlılığını değerlendirmede kullanılmaktadır ve her birinin belirli bağlamlarda avantajları vardır. Yöntemlerin ortak dezavantajları bulunmaktadır: Uç nokta ölçümlerdir, dinamik süreçleri izleyemezler. Reaktif bağımlılığı bulunur, kimyasal reaktifler maliyet ve standartlaştırma sorunu yaratır. Hücre hasarı oluşturur, ölçüm sonrası hücrelerin tekrar kullanımı çoğu zaman mümkün değildir. Ortam bağımlılığı vardır, kültür koşulları ölçüm doğruluğunu ciddi biçimde etkileyebilir. Bu sınırlılıklar non-invaziv, etiketsiz ve gerçek zamanlı ölçüm yapabilen alternatif teknolojilere olan ihtiyacı bir kez daha göstermektedir. Mikrodalga tabanlı elektromanyetik sensörler, hücrelerin dielektrik özelliklerindeki değişimleri doğrudan ölçme kapasiteleri sayesinde daha fazla önem kazanmaktadır.

2.2. Elektromanyetik Dalgalar ve Biyosensör Uygulamaları

Elektromanyetik (EM) dalgaların oluşum mekanizması, temelde elektrik yüklü parçacıkların salınım hareketine dayanır. Salınım yapan bir yük, zamana bağlı bir elektrik alan (E) üretir. Maxwell denklemlerine göre zamanla değişen elektrik alan, manyetik alanın (B) indüklenmesine neden olur. Zamanla değişen manyetik alan da elektrik alanın oluşumunu sağlar. Bu karşılıklı indüksiyon döngüsü sayesinde her iki alana da dik ilerleyen bir dalga ortaya çıkar. Elektrik alan, manyetik alan ve yayılma doğrultusunun

birbirine dik olması elektromanyetik dalgaların enine dalga olarak sınıflandırır. Elektromanyetik dalgalar, radyo sistemleri, mikrodalga fırınlar, kablosuz iletişim, radar teknolojileri ve biyomedikal cihazlar gibi çok sayıda modern teknolojinin temelini oluşturmaktadır (Čáp vd., 2021; Dash ve Khuntia, 2011; Someda, 2017).

Biyosensör, özel bir biyolojik yapıyı tespit ederek, elde edilen veriyi ölçülebilir bir elektriksel sinyale dönüştüren temel bir sensör yapısı olarak tanımlanabilir. Algılama mekanizmasının temelini analizi yapılan biyolojik materyallerin özellikleri oluşturur. Biyosensör teknolojisinde kaydedilen ilerleme tıp alanında kayda değer gelişmelere vesile olmuştur. Günümüzde bu cihazlar; kan glukoz seviyelerinin tespiti, protein gibi spesifik biyomoleküllerin analizi, kalp atış hızı dahil olmak üzere hayati parametrelerin izlenmesi ve çeşitli kanser türlerinin erken evre tanısı gibi çok çeşitli klinik uygulamalarda etkin olarak kullanılmaktadır (Ateş ve Özkan, 2025a).

Elektromanyetik prensiplere dayalı biyosensörler, etiketsiz, gerçek zamanlı ve non-invaziv ölçüm yapabilme özellikleri nedeniyle klasik testlerin kısıtlarını tamamlayıcı ve alternatif bir metot olarak kullanımı yaygınlaşmaktadır. Radyo Frekansı (RF), Mikrodalga ve Terahertz (THz) bantlarını kullanan teknolojiler, günümüzde başta kanser teşhisi olmak üzere, doku takibi ve biyosensör sistemleri gibi kritik medikal alanlarda artan bir öneme sahiptir. Bu yaklaşımlar, biyolojik yapıların elektromanyetik alanlara verdiği frekansa bağlı tepkilerin ve bu tepkileri tanımlayan S-parametrelerinin incelenmesi prensibine dayanır. Söz konusu incelemeler, hastalıkların tanınmasına olanak tanıyan değerli verilerin ortaya çıkarılmasını sağlamaktadır. Hücre bazında yapılan çalışmalar için dielektrik parametre hücre membranı, hücre içi iyonikler ve su içeriği gibi biyolojik faktörlerle değişir (Farmer vd., 2012; Gabriel vd., 1996; Harsanyi, 2000).

Elektromanyetik tabanlı biyosensörlerin, konvansiyonel biyolojik tespit yöntemlerine göre sağladığı avantajlar son yıllarda söz konusu teknolojilere yönelik araştırmaların giderek artmasına neden olmuştur. Bu yöntemlerin temel çalışma prensibi, elektromanyetik alanların biyolojik dokular üzerindeki etkilerinin incelenmesine dayanmaktadır. Canlı organizmalar dış elektromanyetik alanlara maruz kaldığında, dokuların dielektrik özelliklerinde meydana gelen değişimler ölçülerek anlamlı biyolojik veriler elde edilebilmektedir. Biyolojik dokuların elektromanyetik alanlara verdiği ölçülebilir tepkiler, elektromanyetik tabanlı algılama yaklaşımlarının tanısal potansiyelini önemli ölçüde artırmaktadır. Günümüzde elektromanyetik dalgaların kullanım alanı yalnızca teşhis uygulamalarıyla sınırlı kalmamıştır ve tedavi amaçlı biyomedikal

uygulamalarda da yaygınlaşmıştır (Y.-T. Chen vd., 2020; Clements ve Comeau, 2019; P. Huang vd., 2021; Hwang vd., 2020).

Elektromanyetik alanların dokular içerisindeki dağılımı, ortamın sınır koşullarına ve dokuların elektriksel özelliklerine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Yumuşak dokular genellikle yüksek su içeriği nedeniyle yüksek dielektrik sabiti ve iletkenlik gösterirken, kemik dokuları daha düşük dielektrik özellikler göstermektedir (Amin vd., 2019; Gabriel ve Peyman, 2018; Garrett ve Fear, 2014; Sasaki vd., 2022). İnsan dokularının mikrodalga frekans aralıklarındaki dielektrik özelliklerine ilişkin yapılan ilk araştırmalar, esas olarak mikrodalgaların terapötik kullanımlarına odaklanmıştır. Bu çalışmalar, özellikle tümörlerin ve hastalıklı dokuların mikrodalga ile ısıtılması gibi tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde temel rol oynamıştır (Bonello vd., 2018; O'Loughlin vd., 2018).

Mehrotra, Chatterjee ve Sen elektromanyetik dalga tabanlı biyosensörleri (radyo frekansı, mikrodalga, milimetre dalga, terahertz ve optik sistemler) incelediği derleme makalesinde, biyolojik dokuların dielektrik özelliklerinin elektromanyetik dalgalarla etkileşimi temele alınarak, farklı frekans aralıklarının biyosensör uygulamalarında kullanıldığını açıklanmıştır. Biyolojik dokuların dielektrik özelliklerinin frekansa bağlı olarak değiştiği ve bu değişimin iyonik, dipolar ve atomik polarizasyon mekanizmalarıyla açıklanabileceği belirtilmiştir. Özellikle, kHz frekanslarında gözlenen α -dispersiyonun iyonik hareketlerden, MHz frekans aralığındaki β -dispersiyonun hücre zarındaki yük birikimlerinden, GHz seviyesindeki γ -dispersiyonun ise su moleküllerinin dipolar yönelimlerinden kaynaklandığı vurgulanmıştır. Bu fiziksel süreçlerin biyolojik numunelerde tanı koymaya uygun özgül dielektrik imzalar oluşturduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, çalışmada elektromanyetik sensörlerin biyomarker, glikoz, serotonin, kortizol gibi biyomoleküllerin yanı sıra kanserli ve sağlıklı hücrelerin ayırt edilmesinde kullanılabileceği tartışılmıştır. Elektromanyetik dalga tabanlı sensörlerin etiket gerektirmeyen, düşük maliyetli ve non-invaziv karakterleriyle, gelecekteki biyomedikal tanı ve sağlık izleme teknolojileri için güçlü bir alternatif sunduğu vurgulanmıştır (Mehrotra vd., 2019).

2.3. Biyosensörler

Biyosensörler, biyolojik tanıma elemanları ile fiziksel bir transdüserin birleşiminden oluşan ve biyolojik olayları ölçülebilir sinyallere dönüştüren cihazlardır

(Mostufa vd., 2024; Sarkar vd., 2024). Bu cihazların temel amacı bir biyolojik olayı ölçülebilir ve analiz edilebilir bir sinyale dönüştürmektir. Biyosensör alanı, kimya, biyoloji, fizik, malzeme bilimi ve elektronik mühendisliğinin kesişiminde yer alan multidisipliner bir araştırma sahasıdır. Gelişen teknoloji ile birlikte, sağlık, çevre izleme, gıda güvenliği ve endüstriyel uygulamalar gibi birçok alanda biyosensörlerin kullanımı hızla artmıştır (Gavrilaş vd., 2022; C.-W. Huang vd., 2023; Ramesh vd., 2023). Turner'in belirttiği üzere biyosensörler çok geniş kullanım alanlarına yayılarak son kullanıcıya ulaşmış ve basit laboratuvar çalışması olarak kalmayıp endüstriyel alana dönüşmüştür (Turner, 2013). Elektromanyetik tabanlı biyosensörler özellikle optik ve elektro-kimyasal tekniklerle öne çıkmakta, yüksek hassasiyet, hızlı yanıt ve kompakt yapı gibi avantajlar sunmaktadır (C. Chen ve Wang, 2020; D. M. Kim vd., 2021; Nanda vd., 2024). Biyosensörler sağladığı çeşitli avantajlarının yanı sıra geliştirilmesi ve yaygın kullanımı, maliyet, stabilite, biyoyumluluk ve karmaşık matrislerde seçicilik gibi çeşitli zorluklara sahiptir (Chalklen vd., 2020; Fu vd., 2024; Mia vd., 2023).

Biyosensörler; enzimatik, immün, DNA, aptamer, mikrobiyal ve nano-biyosensörler gibi biyoreseptör tiplerine göre; elektro-kimyasal, optik, piezoelektrik ve elektromanyetik tabanlı transdüserlere göre sınıflandırılabilir (Gavrilaş vd., 2022; Hua vd., 2022; Ramesh vd., 2023).

Biyosensörler; sağlık alanında hastalık tanısı, glukoz takibi, kanser biyobelirteçlerinin tespiti gibi geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir (Ateş ve Özkan, 2025b; Bhatia vd., 2024; Cui vd., 2019; S. Singh vd., 2020). Elektromanyetik tabanlı biyosensörler, özellikle hızlı ve hassas analiz gerektiren uygulamalarda tercih edilmektedir (Nanda vd., 2024; H. Zhang vd., 2023).

Elektrokimyasal biyosensörler; kompakt yapısı ve ekonomik olması nedeniyle yaygın olarak kullanılır. Potansiyometrik, amperometrik ve kondüktometrik tipleri bulunur. Tepki süreleri kısadır, tutarlıdır ve yüksek duyarlılığa sahiptir (Ekrami vd., 2021; Hassanpour vd., 2018; Sarkar vd., 2024). Son yıllar yapılan çalışmalar özellikle grafen, karbon nanotüpler ve metal-organik çerçeveler gibi iki boyutlu nano materyallerin elektrot yüzeylerini modifiye ederek duyarlılığı ve seçiciliği artırmaya odaklanmıştır. Yüksek yüzey alanı ve üstün elektron transfer kinetiği sağlanmaktadır. Ek olarak, karmaşık biyolojik verilerin analizinde makine öğrenimi algoritmalarının kullanılması elektrokimyasal sensörlerin performansını artıran önemli çalışmalardandır (C. Sun vd., 2022; Yücer vd., 2025). Hou ve arkadaşları kolon kanserine özgü p53 biyobelirtecini tespit edebilen elektrokimyasal biyosensör tasarlamıştır (Hou vd., 2020).

Optik biyosensörler; floresans, Raman, refraksiyon, absorbands, Yüzey Plazmon Rezonansı (Surface Plasmon Resonance-SPR), Lokalize Yüzey Plazmon Rezonansı (Localized Surface Plasmon Resonance-LSPR), kolorimetrik ve optik dalga boyu temelli tipleri içerir. Düşük gürültü ve elektromanyetik parazitlere karşı bağışıklık gibi önemli avantajlar sunarlar (Barreiros Dos Santos vd., 2022; Y. Sun vd., 2011). Hossain ve arkadaşları, optik SPR biyosensörü geliştirerek meme kanseri belirteçlerini belirlemeyi amaçlamıştır (Hossain vd., 2020).

Kütle temelli biyosensörler; piezoelektrik ve Yüzey Akustik Dalga (Surface Acoustic Wave-SAW) teknolojileri gibi mekanik kuvvet uygulamasına tepki olarak elektriksel sinyaller üretirler (Pohanka, 2018; Zida vd., 2021).

Termal temelli biyosensörler; biyokimyasal reaksiyonlarda meydana gelen ısı alışverişini, sıcaklık değişimini ölçer. Isı değişiklikleri izlenerek süreç kontrolü, enzim aktivite takibi gibi işlemler termal tabanlı biyosensörler aracılığıyla analiz edilebilir (Yakovleva vd., 2013).

Sarkar ve arkadaşları çalışmalarında meme kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri, over kanseri, karaciğer kanseri biyobelirteçlerinin biyosensörler vasıtasıyla algılanabildiğini derlemiştir (Sarkar vd., 2024).

Dalmay ve arkadaşları, mikrodalga frekanslarında empedans spektroskopisine dayanan bir biyosensör geliştirmiştir ve insan beyin tümörlerinden elde edilen hücrelerin elektriksel özelliklerini incelemiştir. Çalışmada geliştirilen sensör tek hücre düzeyinde ölçüm yapabilecek hassasiyettedir. Özellikle kanser kök hücrelerinin tanımlanması ve izlenmesinde, non-invaziv ve güvenilir bir alternatif olarak biyomedikal alandaki mevcut yöntemlere önemli katkılar sağlayabileceği belirtilmiştir (Dalmay vd., 2010).

Kim ve arkadaşları çalışmalarında hızla gelişen giyilebilir biyosensörlerin ter, gözyaşı, tükürük gibi invaziv olmayan veya minimal invaziv biyo-sıvılardaki belirteçleri sürekli ve gerçek zamanlı izleme potansiyelini vurgulamıştır (J. Kim vd., 2019).

Hassan ve arkadaşları çalışmalarında virüs tespitinde kullanılan plazmonik ve metamalzeme tabanlı biyosensör teknolojilerindeki gelişmeleri derlemiştir. ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) gibi geleneksel yöntemlerin zaman alıcı ve maliyetli olması sebebiyle düşük maliyetli sensör yapılarının geliştirilerek hızlı ve etiketsiz tanı sağlaması ihtiyacı belirtilmiştir. Metamalzeme tabanlı sensörlerin Zika virüsü, koronavirüs, adenovirüs gibi virüs türlerini tespit edebildiği belirtilmiştir (Hassan vd., 2021).

Aminuzzaman ve Hossam-E-Haider, kan glikoz konsantrasyonunun non-invaziv yöntemlerle tespiti için metamalzeme tabanlı mikrodalga biyosensör tasarımı ve analizi yapmıştır. Çalışmalarında Rogers RT5880 alt tabakası üzerine mikroşerit yama antene entegre edilmiş Dairesel Tamamlayıcı Yarıklı Halka Rezonatör (Circular Shaped Complementary Split Ring Resonator-CSRR) yapısı kullanmıştır. Yansıma katsayısındaki (S11) genlik değişimleri glikoz konsantrasyonundaki farklılıkları yansıtmaktadır (Aminuzzaman ve Hossam-E-Haider, 2024).

Hamza ve arkadaşları çalışmalarında serviks kanserinin erken evrelerde non-invaziv yöntemlerle tespiti amacıyla üç bantlı metamalzeme tabanlı biyosensör tasarımı yapmıştır. Kanserli dokuların daha yüksek su içeriği ve dielektrik katsayısına sahip olması nedeniyle THz dalgalarını daha fazla absorbe ettiğini göstermiştir. Geliştirilen terahertz metamalzeme tabanlı biyosensörün serviks kanserinin erken evre tanısında invaziv olmayan, taşınabilir, yüksek hassasiyetli ve düşük maliyetli bir alternatif sunduğu gösterilmiştir (Hamza, Islam, vd., 2025).

Patel ve arkadaşları ayarlanabilir kızılötesi (infrared-IR) metamalzeme biyosensör geliştirerek, biyolojik örneklerde farklı konsantrasyonlardaki refraktif indis değişimlerini 1.5–1.65 μm dalga boyu aralığında yüksek hassasiyetle tespit edebilmiştir. Çalışma neticesinde bu yapıların mikro/nano-fabrikasyon teknikleri ile üretilebileceği ve faz değişim kontrollü optik metamalzemelerin biyosensörlerde çoklu dalga boyu, yüksek hassasiyetli ve hızlı tespit sistemleri için yeni bir yönelim sunduğu vurgulanmıştır (Patel vd., 2021).

2.4. Metamalzeme Tabanlı Sensörler

Veselago 1968 yılında teorik olarak metamalzeme kavramını ortaya çıkarmıştır hem dielektrik permitivitesi hem de manyetik permeabilitesi aynı anda negatif olan malzemelerin var olabileceğini ve bu malzemelerin negatif kırılma indisi gibi geleneksel optik kurallarına aykırı özellikler sergileyeceğini öngörmüştür (Veselago, 1968). 1999 yılında Pendry ve ekibi, mikrodalga frekanslarında rezonans yoluyla ayarlanabilir ve negatif efektif manyetik permeabilite sergileyebilen Ayrık Halka Rezonatör (Split-Ring Resonator-SRR) yapısını önermiştir. Metamalzemeler, sensör uygulamaları için ilgi çekicidir çünkü elektromanyetik alanı alt-dalga boyutu ölçeğinde manipüle etme ve küçük hacimlerde yoğunlaştırma yeteneğine sahiptirler (Pendry vd., 1999).

Metamalzeme tabanlı biyosensörler, son yıllarda biyolojik analizlerde yüksek hassasiyet, seçicilik ve etiket gerektirmeyen tespit imkânı sunmaları nedeniyle biyosensör teknolojisinde devrim niteliğinde bir ilerleme olarak öne çıkmaktadır. Metamalzemeler, elektromanyetik dalgaları manipüle edebilen, yapay tasarlanmış yapılardır. Bu özellikleri sayesinde tıbbi tanı, çevresel izleme ve gıda güvenliği gibi alanlarda biyosensörlerin performansı önemli ölçüde artmaktadır. Terahertz, optik ve mikrodalga frekans aralıklarında çalışan metamalzeme ve metayüzey tabanlı sensörler, proteinler, DNA, kanser hücreleri, virüsler ve pestisitler gibi çeşitli biyolojik ve kimyasal analitlerin tespitinde kullanılmaktadır (Beruete ve Jáuregui-López, 2020; Geng vd., 2017; Yesilkoy vd., 2019; W. Zhang vd., 2024). Literatürde kan, meme, rahim ağzı, karaciğer, beyin, akciğer ve cilt kanseri gibi kanser türlerinde metamalzeme tabanlı biyosensörlerin kullanımı görülmektedir (Azab vd., 2021; Geng vd., 2017; Hamza, Tariqul Islam, vd., 2025). Mikroakışkan sistemlerle entegrasyon, grafen gibi yeni nesil nanomalzemelerin kullanımı ve makine öğrenmesi destekli tasarım yaklaşımları metamalzeme biyosensörlerin hassasiyetini ve özgüllüğünü artırmıştır (Lu vd., 2025; R. Zhou vd., 2021). Metamalzeme biyosensörlerde kullanılan yapılar arasında split-ring rezonatörler, açık halka rezonatörler, çok bantlı absorplayıcılar, dielektrik metayüzeyler öne çıkmaktadır (Shamim vd., 2024; Sreekanth vd., 2019).

Bagcı, Gülsu ve Akaoğlu mikrodalga dalga kılavuzu ortamında çalışan, esnek ve çift bantlı bir metamalzeme tabanlı dielektrik sensörün tasarımı ile etanol–metanol karışımlarının karmaşık dielektrik sabitlerinin hassasiyetle belirlenmesini hedeflemiştir. Çalışma sonucunda çok bantlı, metamalzeme tabanlı mikrodalga sensörlerin sıvı karışımların dielektrik karakterizasyonunda yüksek doğrulukla kullanılabileceğini kanıtlamıştır (Bagcı vd., 2022).

Alrayes ve Hussein farklı meme kanseri hücre dizilerini elektriksel ve dielektrik özelliklerine göre ayırt edebilen, Hilbert fraktal geometrisiyle geliştirilmiş metamalzeme tabanlı bir mikrodalga biyosensör tasarlamıştır. Split Ring Resonator yapısı, yüzey akım yoğunluğunu ve elektromanyetik alan hapsini artırmak üzere Hilbert fraktal Defected Ground Structure (DGS) ile birleştirilerek hem yüksek frekans kararlılığı hem de yüksek alan yoğunluğu elde edilmiştir. Simülasyon ve deneysel ölçümler sonucunda, sensörün rezonans frekansında hücre tiplerine göre anlamlı kaymalar tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, her bir hücre tipinin özgün dielektrik sabitine karşılık gelmekte olup sensörün biyolojik ortam değişimlerine yüksek duyarlılıkla yanıt verdiğini göstermektedir. Ayrıca çalışma, SRR ve Hilbert fraktal yapılarının birlikte kullanılmasının, mikrodalga sensörlerin

elektriksel alan dağılımını optimize ederek biyolojik numunelerdeki permitivite farklarını daha doğru biçimde tespit edebileceğini göstermiştir. Metamalzeme temelli biyosensörün kompakt yapısı ve yüksek ölçüm tekrarlanabilirliği ile klinik tanı çalışmalarında etkili olabileceği gösterilmiştir (Alrayes ve Hussein, 2021).

Zhang ve arkadaşları çalışmalarında, THz dalgaları ile biyolojik numuneler arasındaki elektromanyetik etkileşimlerin, biyomoleküler analiz, hastalık teşhisi ve biyomedikal izleme uygulamalarında kullanılabileceğini açıklamıştır. THz metamalzeme sensörlerinin çalışma prensiplerinin; rezonans frekansı kaymasına dayalı iletim veya absorpsiyon tepe değişimleri, polarizasyon dönüşümü ve optik aktivite, THz görüntüleme teknikleri olduğunu belirtmiştir (W. Zhang vd., 2024).

Qureshi ve arkadaşları tarafından, kan glikoz seviyelerinin non-invaziv ve yüksek hassasiyetle tespiti amacıyla milimetre dalga (mm-W) bandında çalışan metamalzeme temelli rezonatör tasarımı yapılmıştır. SRR metamalzeme sensör tasarlanmıştır. 24,9 GHz çalışma frekansında kan glikoz konsantrasyonundaki küçük değişimlere duyarlı olduğu gösterilmiştir. Sensörün çalışma prensibi, kanın dielektrik sabitinin glikoz miktarına bağlı olarak değişmesi ve bu değişimin rezonans frekansı ile kalite faktöründeki kaymalara sebep olmasıdır. Glikoz tespitinde milimetre dalga bandında çalışan metamalzeme temelli bir sensörün kullanılabilirliği ve kanın dielektrik özelliklerindeki farkların algılanabilirliği kazandırılmıştır (Qureshi vd., 2022).

Chuma ve Rasmussen mikrodalga dielektrik spektroskopisi ile yakın kızılötesi (NIR) spektroskopisini aynı fiziksel platformda entegre ederek madde tespitinde hem duyarlılığı hem de doğruluğu artırmak ve ölçüm sürecinde ihtiyaç duyulan örnek sayısını azaltmak amacıyla CSRR geometrisine sahip metamalzeme sensör tasarlamıştır. Sensörün çalışma prensibi, analiz edilen maddenin CSRR yapısında neden olduğu rezonans frekans kaymalarının mikrodalga ölçümleriyle izlenmesi ve bu verilerin eş zamanlı olarak NIR spektrum sonuçlarıyla birleştirilmesi esasına dayanmaktadır (Chuma ve Rasmussen, 2022).

Jagadeesan ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışma, meme kanseri hücrelerinin elektriksel özelliklerine dayalı olarak non-invaziv teşhis yapabilen metamalzeme tabanlı fraktal anten sensörünün tasarımı ve geliştirilmesini konu almaktadır. Araştırmada, antenin hassasiyetini ve seçiciliğini artırmak amacıyla, üst katmanda Split Ring Resonator yapısı ve alt katmanda üçüncü iterasyona sahip Minkowski fraktal eğrisinin Defected Ground Structure olarak entegre edildiği bir sistem tasarlanmıştır. Farklı meme kanseri hücre hatları (MCF-7, MDA-MB-231 ve HS578-T)

üzerinde test edilmiştir ve hücrelerin farklı dielektrik sabitleri ve iletkenlik değerleri nedeniyle anten rezonans frekansında kaymalar gözlemlenmiştir. Metamalzeme tabanlı yapının yüksek duyarlılık, düşük gürültü ve iyi frekans kararlılığına sahip olduğunu ve taşınabilir biyomedikal uygulamalar için uygun olduğunu göstermiştir. Farklı kanser hücrelerinin elektriksel özelliklerine dayalı olarak doğru biçimde sınıflandırılabildiği katkısı sağlanmıştır. Bu çalışma, mikrodalga tabanlı biyosensörlerde duyarlılık ve kararlılık açısından önemli bir ilerleme sağlamış ve tıbbi görüntüleme uygulamalarında kullanılacak kompakt, yüksek performanslı metamalzeme sensörlerinin geliştirilmesine zemin hazırlamıştır (Jagadeesan vd., 2023).

Hamza, Koziel ve Pietrenko-Dabrowska mikrodalga görüntüleme sistemlerinde kullanılmak üzere yeni bir metamalzeme tabanlı sensörün tasarımını ve deneysel doğrulamasını çalışmıştır. Çalışmanın amacı, meme, akciğer ve beyin kanserlerinin erken evrelerinde, dokuların dielektrik özelliklerindeki farklılıklardan yararlanarak non-invaziv ve yüksek çözünürlüklü tespit yapabilen bir sensör geliştirmektir. Bu kapsamda, mikroşerit yama anten, metamalzeme tabanlı bir mercekle katman ve yapay manyetik iletken yapısı entegre edilerek üç katmanlı bir sensör mimarisi oluşturulmuştur. Sensör, meme, akciğer ve beyin doku modellerinde test edilmiş ve tümör tespiti deneyleri gerçekleştirilmiştir. Meme dokusunda yapılan mikrodalga görüntüleme testlerinde, 2-4 mm çapındaki erken evre tümörler yüksek elektrik alan yoğunluğu farkı sayesinde açık biçimde tespit edilmiştir. Akciğer modelinde 2-4 mm boyutlarındaki tümörler dielektrik kontrast farkı üzerinden başarıyla saptanmıştır. Beyin modelinde ise 1-4 mm boyutlarındaki tümörlerin elektromanyetik alan dağılımında oluşturduğu değişimler net şekilde görüntülenmiştir. Çalışma, tek bir sensör tasarımıyla farklı kanser türlerinin erken evrelerinde tespit edilebilmesini mikrodalga görüntüleme sensörü ile başarılı olacağını göstermiştir. İlgili sensör yapısı, mikrodalga temelli kanser teşhis sistemlerinin daha düşük maliyetli, radyasyonsuz ve yüksek çözünürlüklü hale getirilmesine olanak tanımaktadır (Hamza vd., 2024).

Zhou ve arkadaşları, mikrodalga frekanslarında biyolojik moleküllerin hassas tespitine yönelik olarak yüksek empedanslı mikroşerit hatla uyarılan asimetric Split Ring Resonator (aSRR) tabanlı biyosensör tasarlamışlardır. Çalışmanın amacı, geleneksel simetric SRR (sSRR) yapılarında elde edilen rezonans tepki kalitesini ve duyarlılığı artırarak, mikrodalga tabanlı metamalzeme sensörlerin performansını iyileştirmektir. Çalışma neticesinde, aSRR yapısının ince biyolojik tabakaların tespitinde daha yüksek doğruluk ve seçicilik sunduğu gösterilmiştir (J. Zhou vd., 2013).

Chang ve arkadaşları, SPR temelli sistemlerin sınırlı algılama mesafesi ve optik kuplaj gereksinimlerinden kaynaklanan kısıtlamaları aşmak amacıyla, nano-yapılı SRR dizilerine dayanan çok işlevli bir plazmonik biyosensör tasarlamışlardır. Çalışmada, kuplörüz, çok modlu kırılma indisi sensörü (MMRI) yaklaşımı geliştirilmiş ve SRR yapılarında gözlenen çoklu yansıma zirvelerinin, çevresel dielektrik ortama son derece duyarlı olduğu deneysel ve teorik olarak ortaya konmuştur. Çalışma, tek bir SRR platformunda farklı rezonans modlarının hem yüksek duyarlılık hem de derin algılama aralığı sağlayabileceğini göstermiştir (Chang vd., 2010).

Khodaie ve Heidarzadeh, çeşitli kanser hücrelerinin tespiti için çok modlu kırılma indisi prensibine dayalı, split ring resonator tabanlı biyosensör tasarlamışlardır. Çalışmada kanser hücrelerinin dielektrik özelliklerindeki küçük değişimlerin yüksek hassasiyetle saptanabilmesini sağlayacak, etiket gerektirmeyen ve çok modlu bir biyosensör geliştirmek amaçlanmıştır. Çalışmanın literatüre katkısı, iki farklı SRR geometrisinin birleştirilmesiyle çift modlu yüksek hassasiyetli bir sensör elde edilmesi ve böylece hem yüzeysel hem de derin dokulardaki biyolojik değişimlerin aynı anda tespit edilebilmesidir. Biyomedikal teşhis ve erken evre kanser tanısında önemli bir yenilik ortaya konmuştur (Khodaie ve Heidarzadeh, 2024).

Nedjmeddine ve arkadaşları, meme kanserinin erken tanısına yönelik olarak split ring resonator ve complementary split ring resonator yapılarını birleştiren, mikrodalga frekansında çalışan biyosensör geliştirmişlerdir. Çalışmanın temel amacı, mevcut görüntüleme yöntemlerinin yüksek maliyet, düşük duyarlılık ve radyasyon riski gibi sınırlamalarını aşarak, non-invaziv ve yüksek hassasiyetli bir biyosensör sistemi tasarlamaktır. 2 GHz çalışma frekansına sahip sensör, elektromanyetik alanın SRR ve CSRR yapıları arasında hapsolmesini sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Geliştirilen modelin farklı tümör boyutlarına sahip çok katmanlı meme fantomu üzerinde test edilmesi ile tümörlerin rezonans frekansında belirgin kaymalar oluşturduğu gözlemlenmiştir. 5 mm'lik tümör için 129 MHz, 8 mm için 141 MHz ve 10 mm için 133 MHz'lik frekans değişimleri ölçülmüştür. Küçük boyutlu tümörlerin bile elektromanyetik dalga davranışında anlamlı farklılıklar yarattığı ve sensörün erken evre kanser tespitinde etkin olduğu gösterilmiştir (Nedjmeddine vd., 2025).

Govind ve Akhtar sulu glikoz çözeltilerindeki glikoz konsantrasyonlarını SRR sensör ile ölçmüştür (Govind ve Akhtar, 2019). Ye ve arkadaşları, mikroakışkan ortamlarda sıvıların kompleks dielektrik özelliklerini belirlemek amacıyla SRR tabanlı mikrodalga sensör tasarımı gerçekleştirmiştir (Ye vd., 2022). Salim ve Lim, mikroakışkan

tabanlı metamalzeme yapısı kullanarak etanol konsantrasyonlarını mikrodalga frekanslarında tespit edebilen kompakt bir kimyasal sensör geliştirmişlerdir, sensör yapısı CSRR ve mikroakışkan kanal ile oluşturulmuştur (Salim ve Lim, 2016).

2.5. Dielektrik Ölçüm Yöntemleri

Bir malzemenin elektriksel davranışı; kompleks bağıl geçirgenlik (ϵ^*), yani dielektrik sabiti (ϵ') ve kayıp faktörü (ϵ'') ile tanımlanır. Kompleks permitivite şu şekilde ifade edilir:

$$\epsilon^* = \epsilon' - j\epsilon'' \quad (2.1)$$

Burada ϵ' ; elektrik alan enerjisinin malzeme içinde depolanabilirliğini, ϵ'' ; enerji kaybı ya da malzemenin dielektrik ısıtma kapasitesini gösterir. Eşitlik (2.2) ile kayıp tanjantı belirlenir; bu oran, malzemenin her çevrimde ne kadar enerji kaybettiğini gösterir.

$$\tan \delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'} \quad (2.2)$$

Dielektrik ölçümü, malzemelerin elektromanyetik alan altındaki davranışlarının anlaşılmasında kritik rol oynar. Dielektrik özelliklerin doğru ve hassas ölçümü birçok alanda sensör geliştirmede gereklidir. Ölçüm yöntemi seçiminde şu faktörler dikkate alınmalıdır: frekans aralığı, örnek yapısı, hassasiyet ihtiyacı, temas durumu, örnek kalınlığı, sıcaklık, maliyet. Dielektrik ölçüm teknikleri rezonant ve rezonant olmayan iki kategoriye ayrılabilir. Rezonant yöntemler, düşük kayıplı malzemeler için genellikle 50 MHz-100 GHz aralığında yüksek hassasiyet sunar. Rezonant yöntemlere dielektrik rezonatör, split rezonatör, pertürbasyon mikroşerit halka rezonatör teknikleri örnek verilebilir. Rezonant olmayan yöntemler ise geniş frekans aralıklarında çalışabilmekte ve özellikle yüksek kayıplı malzemelerde uygundur. Koaksiyel prob yöntemi (0,5–110 GHz), dalga kılavuzu (waveguide), serbest uzay (free-space) ve paralel plaka (electrode) teknikleri bu alana girmektedir. Koaksiyel prob yöntemi sıvılar için en uygun yöntemlerden birisi olarak belirtilmektedir, numune hazırlama süreci basittir, geniş frekans aralıklarında uygundur fakat numune içerisinde bulunan hava boşlukları hatalı sonuçlara sebep olabilir. Dalga kılavuzu yöntemi katı ve sıvılar için uygulanabilir fakat sıvı numuneler için hava boşluğu bırakmadan hazırlık yapmak önemlidir. Serbest uzay metodu geniş frekans ve temassız ölçüm sağlar ve katı numuneler için uygundur, numune

ve ortam hazırlığı kolaydır ancak malzeme kenarlarından kaynaklı kırınım sorunları yaşanabilir. Paralel plaka metodu ile daha yüksek doğruluk sağlanabilir, ölçümler kolaydır, yüksek kayıplı malzemelerde tercih edilebilirken düşük frekanslarda etkili olmaktadır (Agilent Technologies, 2006; Costa vd., 2024; Jha vd., 2011; Jilani vd., 2012; Nelson ve Kraszewski, 1990; Tereshchenko vd., 2011; Venkatesh ve Raghavan, 2005).

2.6. Biyolojik Doku ve Hücrelerin Dielektrik Özellikleri

Biyolojik doku ve hücrelerin dielektrik özellikleri, elektromanyetik alanlara verdikleri yanıtı tanımlar. Bu özellikler tıp, biyofizik ve biyomedikal mühendislikte tanı, tedavi ve çeşitli ürün geliştirme uygulamaları için önemlidir. Doku ve hücrelerin dielektrik özellikleri, elektriksel iletkenlik (σ) ve bağıl permitivite (ϵ_r) ile tanımlanır. Bu parametreler, dokunun su içeriği, iyon konsantrasyonu, membran yapısı ve hücresel kompozisyonuna bağlı olarak değişir (Shi vd., 2025). Dielektrik özellik frekansa göre değişim göstermektedir ve bir dokunun çeşitli frekans değerlerinde farklı dielektrik özellikleri bulunur. Ayrıca aynı frekans değerinde olsa bile dokuların farklılaşması da farklı dielektrik özellikler göstermesine sebep olur. Bu yüzden algılanacak dokunun en etkili frekans değerinin belirlenmesi önem arz eder (Ateş ve Özkan, 2025a). Açık uçlu koaksiyel probalar biyolojik yapıların dielektrik özelliklerinin ölçümünde basit, temassız ve geniş bant avantajı ile yaygın olarak kullanılır. Doku heterojenliği, su içeriği ve örnek hazırlama süreçlerinde geçen zaman ölçüm sonuçlarında belirsizliklere yol açabilmektedir (Costa vd., 2024; Shi vd., 2025).

Geçmişte çeşitli biyolojik dokuların dielektrik ölçümleri yapılmış ve literatüre kazandırılmıştır. Günümüzde de bazı çalışmalar güncel ölçümler yapmıştır. Bu ölçümler sırasında sağlıklı dokuların yanı sıra kanserli doku ölçümleri de yapılmıştır. Sasaki ve arkadaşları biyolojik dokuların dielektrik özelliklerinin ölçümü konusundaki araştırmaları incelemiştir. Çalışmada, α -, β - ve γ -dispersiyon bölgeleri yeniden tanımlanarak, düşük frekanslarda iyonik polarizasyonun (α), orta frekanslarda hücre zarının arayüzey polarizasyonunun (β) ve yüksek frekanslarda su moleküllerinin dipol relaksasyonunun (γ) dokuların dielektrik davranışını belirlediği gösterilmiştir. Dokuların su içeriği, iyon yoğunluğu, sıcaklık ile GHz bantlarında dielektrik özelliğe ciddi etkisi olduğu belirtilmiştir. Malign dokuların çoğu durumda daha yüksek permitivite ve iletkenlik değerlerine sahip olduğu belirtilmiştir (Sasaki vd., 2022).

Singh ve arkadaşlarının insan meme dokusunda yaptığı ölçümler, malign tümörlü bölgelerde permitivite değerlerinin belirgin bir şekilde arttığını göstermiştir (B. Singh vd., 1979).

Lazebnik ve çalışma arkadaşları, koaksiyel prob yöntemi kullanarak 50 MHz ile 20 GHz frekans aralığında insan meme dokularının *in vitro* dielektrik özelliklerini incelemiştir. Ölçümler, doku sıcaklıklarının yaklaşık 18 °C ile 26,6 °C arasında değiştiği koşullarda gerçekleştirilmiştir. Dokuların dielektrik özelliklerinde yaklaşık on kat kadar farklılık bulunmuştur. Düşük su içeriği nedeniyle permitivite ve iletkenlik farkının dokuların yağ içeriğiyle ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Lazebnik vd., 2007).

Pethig çalışmasında doku su içeriğinin dielektrik özellikler üzerinde baskın etkiye sahip olduğunu vurgulamıştır. Yaklaşık %75 gibi yüksek su oranına sahip kas dokusunun yüksek permitivite ve iletkenlik gösterirken, buna karşın düşük su içeriğine sahip yağ dokusunun (%5–20) düşük değerler sergilediğini saptamıştır (Pethig, 1987). Pethig bir başka çalışmasında, kanserli dokuların normal dokulara göre daha yüksek dielektrik sabiti ve iletkenlik sergilediğini, bunun sebebinin de hücre yapısının bozulmaları ve su/iyon içeriği artışıyla ilişkili olduğunu vurgulamıştır (Pethig, 1984).

O'Rourke ve arkadaşları, koaksiyel prob yöntemi kullanarak insan karaciğer dokularının dielektrik özelliklerini 0,5–20 GHz frekans aralığında hem *in vivo* hem de *in vitro* koşullarda incelemiştir (O'Rourke vd., 2007).

Le Berre ve arkadaşları, insan pankreasının tümörlü ve sağlıklı dokularının elektriksel özelliklerini *ex-vivo* koşullarda ölçmüşlerdir. Ölçümler, 10 Hz–1 MHz frekans aralığında yapılmış ve empedans spektroskopisi yöntemiyle doku iletkenliği (σ) ve bağıl permitivite (ϵ_r) değerleri hesaplanmıştır. Ölçümler sonucunda, 500 kHz frekansında insan sağlıklı pankreas dokusunun iletkenliği 0,26 S/m, tümörlü dokunun ise 0,44 S/m olarak ölçülmüştür. Bağıl permitivite değeri yaklaşık $2,3 \times 10^3$ olarak ölçülmüştür. 10 kHz frekansında ölçümler, tümörlü dokularda bağıl permitivitenin sağlıklı dokuya göre yaklaşık %80 daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, tümör dokularında hücre zar yapısının bozulması, iyon konsantrasyonu artışı ve membran kapasitansındaki değişimlerle ilişkilendirilmiştir (Le Berre vd., 2025).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu bölümde, PANC-1 ve BxPC-3 pankreas kanseri hücre hatları üzerinde Quercetin'in sitotoksik etkisini, SRR tabanlı bir mikrodalga biyosensör aracılığıyla - ölçmek amacıyla izlenen metodoloji ve kullanılan materyaller detaylandırılmaktadır. Biyolojik materyallerin hazırlanması ve sitotoksik ajan uygulanması, hücre kültürlerinin dielektrik özelliklerinin Vektör Network Analizör (VNA) ve koaksiyel prob ile ölçülmesi, bu dielektrik verilere dayanarak SRR sensör tasarımı ve optimizasyonu, sensör prototipinin üretimi, üretilen sensör ile farklı doz ve sürelerde sitotoksositeye maruz bırakılmış hücrelerin mikrodalga yanıtlarının ölçülmesi, sensör sonuçlarının, altın standart olarak nitelendirilen MTT hücre canlılık testi sonuçları ile karşılaştırılması ve verilerin istatistiksel analizini kapsamaktadır.

3.1. Hücre Kültürünün Hazırlanması

Hücre hatları, biyomedikal araştırmalarda ve ilaç geliştirme süreçlerinde yaygın olarak kullanılan, laboratuvar ortamında sürekli çoğalabilen hücre popülasyonlarıdır. Hücre hatları, sınırsız biyolojik materyal kaynağı sunar ve özellikle kanser araştırmaları ile ilaç taramalarında yaygın olarak kullanılır. Doğru koşullarda ve uygun kontrollerle kullanıldıklarında orijinal dokunun genetik özelliklerinin çoğunu koruyabilirler (Mirabelli vd., 2019; Richter vd., 2021).

PANC-1, insan pankreas duktal adenokarsinomundan türetilmiş, dünya genelinde pankreas kanseri biyolojisi, ilaç direnci, metastaz ve yeni tedavi yaklaşımlarının araştırılmasında yaygın olarak kullanılan bir hücre hattıdır (Lieber vd., 1975). BxPC-3, insan pankreas adenokarsinomundan türetilmiş, yaygın olarak kullanılan bir hücre hattıdır. Bu hücre hattı, ilaç direnci, metabolik özellikler, genetik/moleküler mekanizmalar ve yeni tedavi stratejilerinin araştırılmasında model olarak tercih edilmektedir. BxPC-3, 1986 yılında primer insan pankreas tümöründen izole edilmiştir ve hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde tümör oluşturma kapasitesine sahiptir (Tan vd., 1986). BxPC-3, kemoterapiye karşı direnç geliştirebilen bir modeldir (Arias vd., 2021). BxPC-3 ve PANC-1 hücreleri, epitel morfolojisine sahip birincil pankreas kanseri hücre hatlarıdır. İlk hücreler daha epitel benzeri özelliklere sahipken, sonraki hücreler daha fazla mezenkimal özellik sergiler (Y. Kim vd., 2014).

Tez çalışmasında, PANC-1 (ATCC® CRL-1469™) ve BxPC-3 (ATCC® CRL-1867™) hücre hatları kullanılmıştır. Hücreler, Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu'ndan (American Type Culture Collection-ATCC, ABD) temin edilmiştir (ATCC, t.y.).

PANC-1 ve BxPC-3 pankreas kanseri hücre hatları öncelikle hücre kültürü laboratuvarında kültüre edilmiştir. Kültür işlemi için ATCC'den temin edilen hücre hatları, üreticinin talimatlarına göre, %10 heat-inactivated FBS (Fetal Buzağı Serumu, Gibco Thermo Fisher) ve %1-2 penisilin/streptomisin (Sigma-Aldrich) antibiyotik solüsyonlu medium içerisinde steril koşullarda, %5 CO₂, nemli ortam, 37°C koşullarına ayarlanmış Şekil 3.1'de gösterilen PHCbi MCO-170 karbondioksitli inkübatörde kültüre edilmiştir. Karbondioksitli inkübatör kullanım amacı, vücut sıcaklığı olan 37°C'de sabit tutmak, besiyeri sıvısının buharlaşmasını engellemek için %95 nem değerini korumak ve ortamı %5 sabit bir karbondioksit seviyesinde tutmaktır. Ayrıca içerisinde UV (ultraviyole) ışık sayesinde steril tutarak kontaminasyonu önler.



Şekil 3.1. Karbondioksitli inkübatör (a) ayarlama ekranı ve (b) içerisinde inkübe edilen kültürler

Yapışkan hücreler T25 ve T75'lik flasklarda çoğaltılmıştır. Gün aşırı mediumu değiştirildikten sonra yeterli konfluense ulaşan hücreler %0,25 tripsin-EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) ile yaklaşık 5 dk boyunca 37°C'de muamele edilerek kaldırılmıştır. Hücreler yaklaşık iki kat hacimdeki kültür mediumu ile detripsinize edilmiştir. Hücreler, 1500 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra, hücre peleti taze kültür mediumu ile süspanse edilerek 80°C'de dondurularak (%10 DMSO+%90 kültür mediumu) steril kriyovial tüplerde saklanmıştır.

Kültürlerin rutin takibi, morfolojik değişikliklerin incelenmesi ve deneylerin fotoğraflanması, Şekil 3.2'de gösterilen Nikon TS2 inverted mikroskop kullanılarak yapılmıştır. Görüntülerin dijital olarak kaydedilmesi için mikroskobun trinoküler portuna

bağlı dijital kamera sistemi kullanılmıştır. Hücrelerin flask dibinde büyümesi sebebiyle kabın altından bakarak doğrudan hücrelere odaklanmayı sağlamak amacıyla inverted mikroskop kullanılmıştır. Elde edilen hücre görüntüleri Bölüm 4’te paylaşılmıştır.



Şekil 3.2. Kullanılan trinoküler inverted mikroskop

Bu çalışma kapsamında yürütülen tüm deneysel işlemler, yalnızca ticari olarak temin edilen PANC-1 ve BxPC-3 insan pankreas kanseri hücre hatları kullanılarak *in vitro* düzeyde gerçekleştirilmiştir. Çalışma herhangi bir insan katılımcı, hayvan deneyi ya da kişisel veri içermemektedir. Bu nedenle, ilgili mevzuat ve yönergeler doğrultusunda etik kurul onayı gerektirmemektedir. Deney sürecinde biyogüvenlik koşulları sağlanmış; laboratuvar güvenliği, atık yönetimi ve ilgili standartlara titizlikle uyulmuştur. Çalışmalar sırasında numune, kullanıcı ve çevre güvenliğini sağlayan Şekil 3.3’te gösterilen Class II biyolojik güvenlik kabini kullanılmıştır.



Şekil 3.3. Biyolojik güvenlik kabini

3.2. Sitotoksik Ajan Uygulanması

Sitotoksik ajanlar, genellikle hücre kültürlerine belirli konsantrasyonlarda eklenir ve hücrelerin yanıtı çeşitli testlerle ölçülür. Sık kullanılan yöntemler arasında MTT testleri, protein/DNA sentezi ölçümleri ve canlılık/ölüm oranı analizleri bulunur (Lindhagen vd., 2008; Weyermann vd., 2005). Sitotoksik etkinin değerlendirilmesinde genellikle IC_{50} parametresi kullanılır; bu değer, hücrelerin %50'sinin ölmesini sağlayan ajan konsantrasyonunu gösterir (Freshney, 2001; Horváth, 1980).

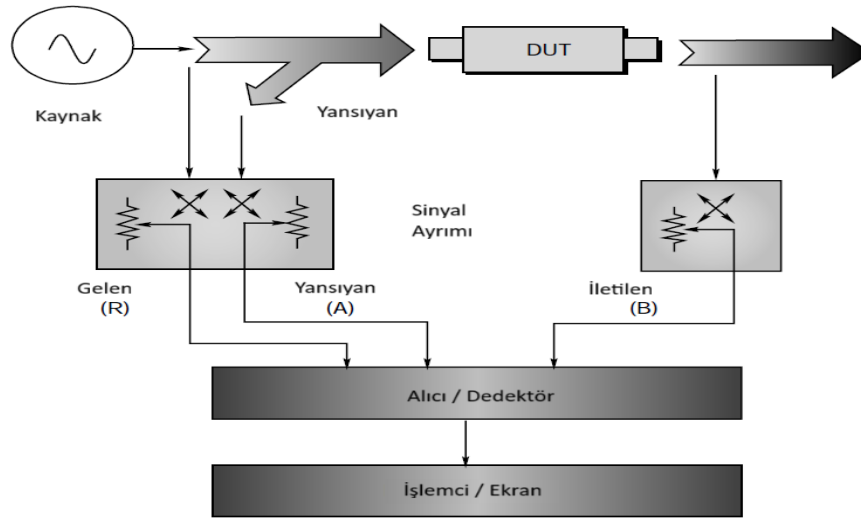
Tezimizin amacı olan kanser hücre hatlarında canlı hücre yoğunluğunu belirleme işleminin temelini oluşturan ilaç etkinliği tespiti işlemi için hazırlanan hücre hatlarına sitotoksik madde uygulanmıştır. Farklı dozlarda ve inkübasyon sürelerinde sitotoksik ajan uygulanması sonrasında hücre hatlarının dielektrik ölçümleri yapılmıştır ve hücre canlılık değişim takibini yapacak sensör geliştirilmiştir. PANC-1 ve BxPC-3 hücre hatlarına Quercetin uygulanmıştır. Quercetin, PANC-1 hücrelerinde belirgin sitotoksik etki gösterir ve apoptozu tetikler. Bu süreçte DNA parçalanması, kromatin yoğunlaşması ve mitokondriyal disfonksiyon gerçekleşir (J. H. Lee vd., 2013; Z. Liu vd., 2020). Quercetin, kemoterapiye dirençli PANC-1 hücrelerinde de apoptozu artırır ve S fazında hücre döngüsü durdurur (Asgharian vd., 2021). Quercetin, BxPC-3 pankreas kanseri hücrelerinde de hücre canlılığını belirgin şekilde azaltmakta ve apoptozu tetiklemektedir (P. Fan vd., 2016).

Sitotoksisite testi için, hücre kültür ortamında pasajlanarak çoğaltılan hücrelerin çoğalma durumları Thermo Fisher Countess II otomatik hücre sayım cihazında kasetlere yükleme yapılarak kontrol edilmiştir. Çoğaltılan hücreler 1xPBS ile yıkandıktan sonra, kuyucuk başına $\sim 5 \times 10^3$ hücre olacak şekilde 96-kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Yaklaşık bir gün sonra, invert mikroskop ile adherensi kontrol edilen hücrelerin kültür mediumu uzaklaştırılmıştır. Hücreler, 1-1000 $\mu\text{g/ml}$ doz aralığındaki farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Quercetin ile 24, 48 ve 72 saat boyunca muamele edilmiştir. Quercetin uygulanmamış hücre kültürleri kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Belirlenen süreler tamamlandıktan sonra, madde içerikli medium ortamdan uzaklaştırılmış ve hücreler $\sim 3-4$ saat boyunca 1xPBS ile hazırlanan %5'lik MTT boyası ile muamele edildikten sonra oluşan kristaller kuyucuk başına 200 μl DMSO ile karanlık ortamda çözdürüldükten sonra, bir mikro plaka okuyucuda 570 nm dalga boyunca absorban ölçümü alınmıştır. Elde edilen verilerden, IC_{50} değerleri belirlenmiştir.

3.3. Dielektrik Özellik Ölçümü

Hücre kültürlerinin sitotoksik madde uygulaması sonrası canlılık durumlarına bağlı olarak değişen dielektrik özelliklerini ölçmek için açık uçlu koaksiyel prob tekniği kullanılmıştır ve Vektör Network Analizör (VNA) ile ölçümleri yapılmıştır.

Network analizörler, mikrodalga ağlarını ölçme temel prensiplerini kapsar. Temel çalışma mantığı bir iletim hattı boyunca, yansıyan ve iletilen dalgaların karakteristiğini ölçmektir. Yüksek frekans değerlerinde akım ve gerilimin ölçülmesinin zorluğu sebebiyle bileşenlerin Radyo Frekansı (RF) sinyallerine olan tepkilerine göre karakterize edilmesi gereklidir. Network analizörler, bilinen sinyalleri bir cihaza gönderip giriş ve çıkış sinyalleri arasındaki oran ölçümlerini alarak bu işlemi gerçekleştirir. Bir network analizörünün Şekil 3.4'te gösterildiği gibi temel blok diyagramında dört ana unsur bulunur: uyarı sağlayan bir kaynak, sinyalleri ayıran cihazlar, sinyalleri tespit eden bir alıcı ve sonuçları hesaplayıp gösteren bir işlemci ve ekran (Collier vd., 2007).



Şekil 3.4. VNA temel blok diyagramı (Collier vd., 2007)

Vektör analizörler sinyallerin hem faz hem de büyüklük bileşenleri ölçebilir. VNA, kendisine bağlı iki portlu bir cihazın saçılma parametrelerini (S-parametreleri) gerçek zamanlı olarak ölçebilir. Ayarlanabilir bant genişliğine sahiptir. Ölçümler faz ve büyüklük, reel ve sanal, empedans koordinatları gibi çeşitli formatlarda görüntülenebilir. Sinyal akışını tersine çevirme yeteneğine sahip 2 portlu 2 yollu bir VNA'ya, test altındaki cihaz (Device Under Test-DUT) her iki porta da her iki yönde bağlanabilir, böylece her

iki porttaki (S11 ve S22) yansımalar ve ileri ve geri iletim (S21 ve S12) ölçülebilir (Collier vd., 2007).

Dielektrik probalar, malzeme özelliklerini RF ve mikrodalga frekanslarında ölçmek için kullanılan yansımali ve temassız ölçüm araçlarıdır. Koaksiyel probalar, yaygın kullanılan dielektrik ölçüm araçlarından birisidir. Çalışma prensibi, koaksiyel hat içinde yayılan bir enine elektromanyetik dalganın (Transverse Electromagnetic-TEM) probun açık ucundan dielektrik numuneye fırlattığı saçaklanan elektromanyetik alanlara dayanır. Bu saçaklanan alanların büyüklüğü ve geometrisi, dielektrik malzemenin kompleks geçirgenliğine bağlıdır. Koaksiyel probalar sıvı numuneler için idealdir. Geniş çalışma frekans aralığına sahiptir. Probun yüzeyine en yakın malzemenin geçirgenliğine karşı yüksek hassasiyet göstermesinden dolayı, numune ile prob yüzeyi arasında kalan hava boşlukları ölçüm hatalarına yol açabilir. Numunenin homojen yapılı olması ölçüm doğruluğunu artırır (Agilent Technologies, 2006; Collier vd., 2007; Sphicopoulos vd., 1985).

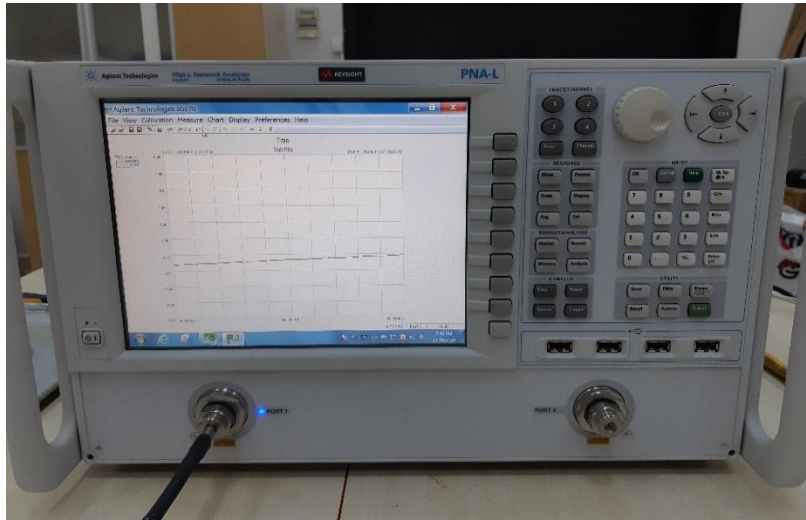
Konya Ticaret Odası (KTO) Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında hazırlanan hücre kültürleri dielektrik özellik ölçümü yapılabilmesi için İskenderun Teknik Üniversitesi elektronik sinyal işleme laboratuvarına götürülmüştür. Laboratuvar ortamında ilgili prosedürlere uygun olarak hazırlanan ve farklı doz ve inkübasyon sürelerinde sitotoksik madde uygulanan hücre kültürleri, steril, şeffaf T25 flasklarda taşınmıştır. 10, 100, 500, 1000 µg/ml dozlarında ve 24, 48, 72 saat inkübasyon sürelerine maruz bırakılan kültürler ile kontrol amaçlı sitotoksik muameleye maruz bırakılmayan hücre hattı ayrı flasklarda hazırlanmıştır ve üzerlerine doz ve süre bilgileri yazılmıştır. Hücre kültürlerinin taşınması sırasında hücrelerin zarar görmemesi için gerekli önlemler alınmıştır. Kültüre edilen 37°C sıcaklık değerini korumak için Şekil 3.5'te gösterilen ısı yalıtımlı taşıma kabı hazırlanmıştır. Yalıtım sağlamak adına strafor kutu kullanılmıştır. Kutu içerisindeki ısıyı koruyabilmek amacıyla strafor kutu içerisi alüminyum folyo ile kaplanmıştır ve iki strafor kutu iç içe geçirilmiştir. Ek olarak bu iki strafor kutu yalıtımlı termal taşıma çantasına yerleştirilmiştir. Böylece kutu içerisinde kültürlerin sıcaklıkları korunmuştur ve ani sıcaklık değişimleri engellenmiştir. Taşıma sürecinde sıcaklık sabit kalamayacağı için termostatlı ısıtma sistemi kurulmuştur. Alüminyum folyo ile kaplanan kutu içerisine silikon rezistans kablo döşenmiştir ve sıcaklık sensörü ile termostat düzeneği kurulmuştur. Flasklar ile rezistansın doğrudan teması önlenmiştir ve ısının eşit dağılımı sağlanmıştır. Kurulan sistem sayesinde hücre

kültürlerinin bulunduğu ortam 36-37°C değerinde sabit tutulmuştur. Laboratuvarda ölçümler sırasında da sıcaklık değeri korunmuştur.



Şekil 3.5. Hazırlanan taşıma düzeneği ve flasklar

Ölçümler sırasında Keysight N5234A PNA-L mikrodalga network analizör kullanılmıştır. VNA 10 MHz-43,5 GHz frekans aralığında ölçüm yapabilmektedir. Ölçümlerin yapıldığı VNA Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Ölçümlerde kullanılan VNA

Hazırlanan numunelerin dielektrik özelliklerinin ölçülmesi aşamasında açık uçlu koaksiyel prob yöntemi tercih edilmiştir. VNA'ya yüksek frekanslı RF kablosu ile bağlanan ve ucu doğrudan sıvı numuneye daldırılan Keysight (Agilent) 85070E dielektrik prob kiti kullanılmıştır. 200 MHz'den 50 GHz'e kadar ölçüm kabiliyeti olan prob setinin

yüksek sıcaklık probu ile 1-20 GHz arasında ölçümler yapılabilir. Koaksiyel prob ile algılanan verilerin analizleri VNA aracılığıyla yapılarak VNA ekranında değerler gerçek zamanlı olarak takip edilebildiği gibi çeşitli uzantılar ile kaydedilme imkanı da bulunmaktadır. Ölçülen verileri kullanabilmek adına csv formatında kaydedilerek üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Kullanılan koaksiyel prob Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. Koaksiyel prob ve VNA

RF ölçümleri son derece hassastır. Test kabloları, konnektörler ve bağlantı elemanları ölçümü etkiler. Kalibrasyon öncesinde, ağ analizörünün portlarının ötesindeki her şey, kablolar ve konnektörler de dahil olmak üzere ölçüme dahil edilir ve DUT gibi değerlendirilir. Hassas ve tekrarlanabilir ölçümler elde etmek için VNA ve prob sistemi, deney serisinden önce standart bir kalibrasyon prosedürüne tabi tutulmuştur. VNA kalibrasyon ekranında gerekli yönlendirmeler yapılmaktadır. Ürünün kalibrasyon kitinde bulunan ekipmanlar ile işlemler yapılmıştır. Açık devre, kısa devre ve yük olarak üç standart kalibrasyon yapılmıştır. İlk olarak prob ucu açık bırakılarak açık devre kalibrasyon testi gerçekleştirilmiştir. Ardından Şekil 3.8’de gösterilen kalibrasyon kiti yardımıyla kısa devre kalibrasyonu ve son olarak su dolu kaba daldırılarak yük kalibrasyonu yapılmıştır. Su ölçümü ile kalibrasyonun başarılı olduğu teyit edilmiştir. Keysight Elektronik Kalibrasyon Modülü (ECal) sayesinde standart kalibrasyon sonrasında otomatik ECal gerçekleştirilir, her ölçüm öncesi otomatik olarak kalibrasyon gerçekleşir. Test portunun kablo hareketleri yeni kalibrasyonlar sayesinde hata oluşturmaz (Keysight Technologies, 2017).



Şekil 3.8. Koaksiyel probun kalibrasyon işlemi

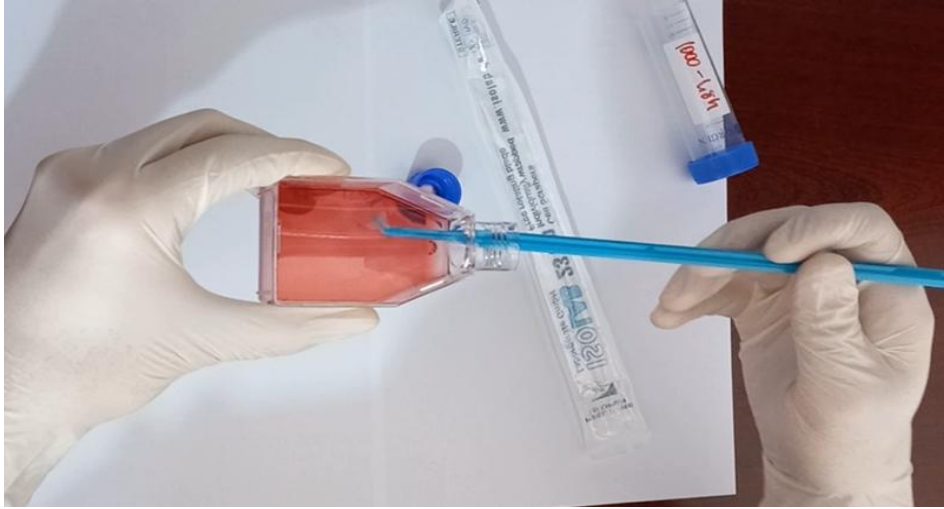
Başlangıç ve bitiş frekanslarının tanımlanması, merkez frekans verisi girilmesi, örnekleme sayısı veya adım aralıklarının belirlenmesi işlemleri ve kalibrasyon sürecinin tamamlanması ile sistem ölçümler için hazır duruma getirilmiştir. İlk olarak su ölçümü yapılarak ölçümün doğruluğu teyit edilmiştir. Hücre hatlarının koaksiyel prob ile dielektrik özellik ölçümleri 1-20 GHz arasında yapılmıştır. Ölçüm sayısı 2001 olarak belirlenmiştir.

Şekil 3.9'da gösterilen T25 flasklar içerisinde bulunan hücre kültürlerinin koaksiyel prob ile ölçümleri yapılabilmesi için 50 ml santrifüj falkon tüplere aktarılması gerekmektedir.



Şekil 3.9. Hücre kültürü bulunan flask

Falkon tüpler sızdırmaz kapaklı ve sterildir. Ortam koşullarından etkilenmemesi için kapalı paketlerde taşınan steril falkon tüplere flasklarda bulunan hücre kültürlerinin aktarılması işleminden önce bir dizi hazırlık yapılması gerekmektedir. PANC-1 ve BxPC-3 hücreleri kültür ortamlarında flask yüzeyine yapışarak büyürler. Bu hücreler adherent (yapışkan) hücre hatlarıdır ve plastik yüzeylere tutunarak çoğalırlar (S.-K. Kim vd., 2020; Kuo vd., 2023). Bu hücrelerin plastik yüzeye tutunarak çoğalması sebebiyle medium içerisinde canlı hücre bulunmamaktadır. Steril, pirojenik olmayan ve DNase/RNase içermeyen hücre kazıyıcılar ile kültür kabının tabanına yapışan hücreler Şekil 3.10'da gösterildiği gibi kazınarak mediaa dağılması sağlandıktan sonra falkon tüplere alınmıştır. Kazıma işlemi, Quercetin uygulanmış deney gruplarına ve sitotoksik ajan uygulanmamış kontrol grubuna standart ve birebir aynı şekilde uygulanmıştır. Burada özellikle canlı hücrelerin sıvı ortama karışması ve homojen yapı oluşturulması istenmiştir.



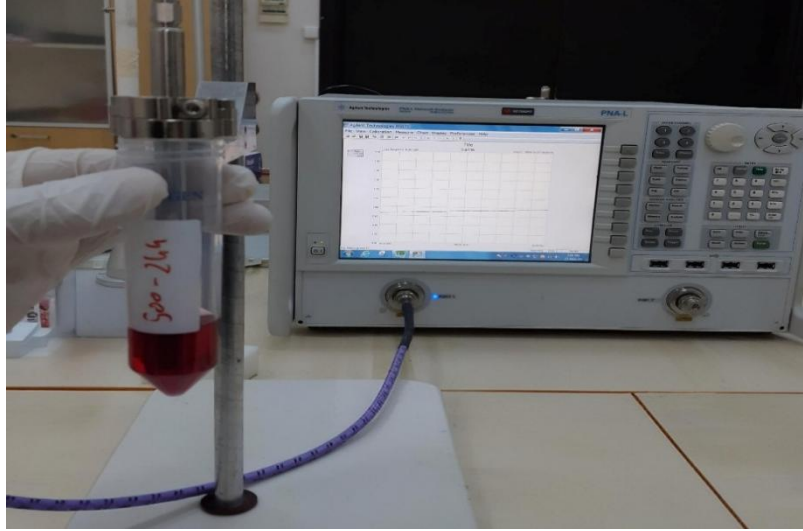
Şekil 3.10. Hücre kazıyıcı ile flask tabanına yapışan hücrelerin kazınması işlemi

Flaskların üzerine yazılan doz ve inkübasyon süre bilgileri falkon tüplerin üzerlerine de yazılmıştır ve kazıma işlemi sonrasında canlı ve ölü hücrelerin bir arada bulunduğu sıvı falkon tüpe aktarılmıştır. 1000 µg/ml doz ve 24 saat inkübasyon süresine sahip kültürün bulunduğu falkon görseli Şekil 3.11'de gösterilmiştir.



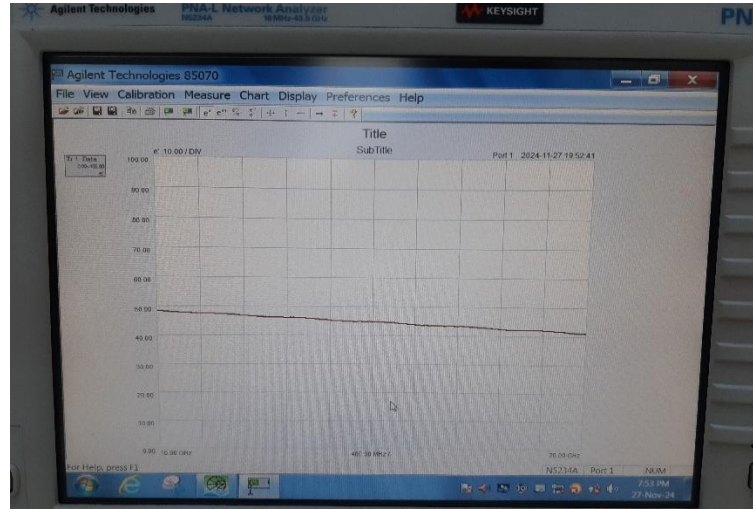
Şekil 3.11. 1000 µg/ml doz ve 24 saat inkübasyona sahip kültürün falkon tüp görüntüsü

VNA ve koaksiyel probun kalibrasyon işlemleri ve hücre kültürlerinin kazıma ve falkon tüpe aktarılması işlemleri sonrasında 10 µg/ml – 24h, 100 µg/ml – 24h, 500 µg/ml – 24h, 1000 µg/ml – 24h, 10 µg/ml – 48h, 100 µg/ml – 48h, 500 µg/ml – 48h, 1000 µg/ml – 48h, 10 µg/ml – 72h, 100 µg/ml – 72h, 500 µg/ml – 72h, 1000 µg/ml – 72h doz ve inkübasyon sürelerinde 12 numune, sitotoksik madde uygulanmamış yalnızca hücre hattı kültüre edilmiş 24, 48, 72 saatlik üç farklı kontrol numunesi ve medium ortamı olarak isimlendirilen besiyeri ile toplamda 16 numunenin ölçümü gerçekleştirilmiştir. Tüm ölçümler sırasında sıcaklık uygun değerde korunmuş, kazıyıcı, şırınga, tüp gibi malzemeler steril şekilde ve tek bir numune için kullanılmıştır. İşlemler boyunca eldiven ve maske takılmıştır. Koaksiyel prob ölçümünde hava baloncukları ölçümde hatalar oluşturabildiği için kazıma, aktarma, karıştırma işlemlerinde hassas davranılmıştır ve hava kabarcığı oluşturulmamıştır. Tüm numunelerde eşit miktarda sıvı kullanımına dikkat edilmiş ve her ölçüm 5 kez tekrarlanarak hatalar asgariye indirilmiştir. Ölçüm boyunca numuneler aynı sıcaklık değerinde tutulmuştur. Farklı numunelerin ölçümleri arasında prob ucu temizlenmiştir ve çapraz bulaş riski ortadan kaldırılmıştır. 500 µg/ml – 24h miktar ve süresinde Quercetin muamelesine maruz kalan PANC-1 hücre hattının bulunduğu kültürün koaksiyel prob ile dielektrik özelliğinin ölçümü Şekil 3.12’de gösterilmiştir.



Şekil 3.12. Hücre kültürünün koaksiyel prob ile dielektrik özellik ölçümü

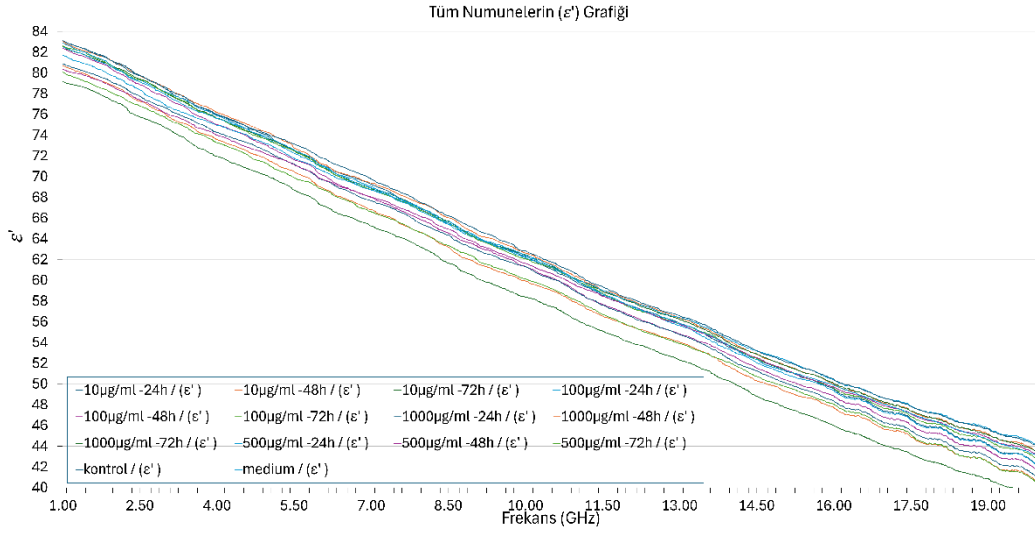
Ölçüm anında gerçek zamanlı veriler VNA ekranında takip edilebilmektedir. ϵ' ve $\tan \delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'}$ değerleri ölçüm neticesinde elde edilmiştir. Ölçümlerin takip edilmesi için VNA ekranındaki değerler incelenmiştir ancak nihai analizler ve sensör tasarım işlemlerinde, VNA ölçümünde kaydedilen dosyalar kullanılmıştır. Örnek olarak bir numunenin 16 GHz-20 GHz aralığındaki ölçümünün ϵ' sonucunun VNA ekranındaki görüntüsü Şekil 3.13'te verilmiştir.



Şekil 3.13. ϵ' değerinin VNA ekranında görünümü

Tüm ölçümler neticesinde elde edilen veriler tek bir grafik üzerinde toplanarak genel dielektrik değişimi gözlemlenmiştir. Tüm numunelerin 1 GHz-20 GHz arasındaki ϵ' verilerinin çizgi grafik gösterimi Şekil 3.14'te paylaşılmıştır. Bu grafik üzerinden

verilerin okunmasının zorluğu ve geniş frekans aralığı sebebiyle özellikle sensör çalışma frekans aralığındaki bilgiler Bölüm 4'te detaylıca ve tablolarda paylaşılmıştır.



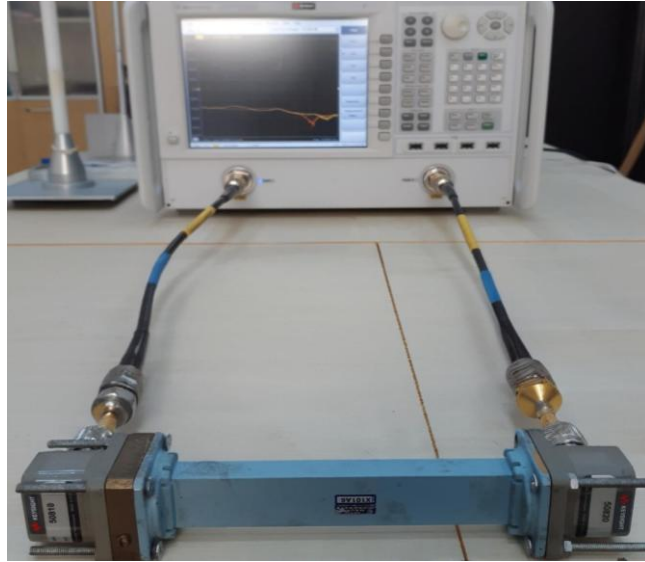
Şekil 3.14. Tüm numunelerin ϵ' ölçüm grafiği

3.4. Dalga Kılavuzu Ölçümleri

Dalga kılavuzu, elektromanyetik dalgaları özellikle mikrodalga ve radyo frekansı bandındaki dalgaları, bir noktadan diğerine minimum enerji kaybıyla yönlendirmek ve iletmek için tasarlanmış fiziksel bir yapıdır. Tipik bir mikrodalga dalga kılavuzu içi boş bir metal boru şeklindedir ve genellikle dikdörtgen kesitlidir. Enerjiyi iki iletken aracılığıyla taşıyan koaksiyel kabloların aksine, dalga kılavuzları dalgayı metal duvarlar arasındaki boşlukta veya bir dielektrik malzeme içinde hapsederek iletir. Dalga kılavuzu ölçümleri, elektromanyetik dalgaların belirli frekanslarda ve yönlerde nasıl yayıldığını incelemek amacıyla kullanılan tekniklerdendir. Dielektrik özellik tayini, sönümlenme ölçümleri, iletim kayıpları ve yalıtım etkinliği gibi uygulamalarda kullanılır. Yüksek kayıplı ve ince malzemelerin mikrodalga karakterizasyonu için modifiye dalga kılavuzu teknikleri, açık uçlu dalga kılavuzu yöntemleri ve slotted dalga kılavuzları gibi yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu yöntemler, özellikle dielektrik sabiti ve kayıp faktörü gibi parametrelerin hassas ölçümünü mümkün kılar (Y. Liu vd., 2025; Munalli vd., 2022; Pozar, 2012).

Koaksiyel prob ölçümleri sonrasında Şekil 3.15'te gösterilen dalga kılavuzu yöntemiyle ölçümler yapılmıştır. Hücre kültürleri dalga kılavuzunun numune tutucu bölmesine yerleştirilmiştir. VNA bağlantılarının yapılması sonucunda dalga kılavuzunun

ölçüm aralığı olan 8 GHz-12 GHz frekans ayarlaması yapılarak ölçüme başlanmıştır. Bu ölçüm ile hücre kültürlerinin geçirgenlik ve iletkenlik değişimleri incelenmiştir. Hücre kültürünün S parametreleri hakkında bilgi sahibi olmak ve sensör üretimi sonucunda yakalanacak S parametre değimi hakkında bilgi edinmek amacıyla bu yöntem uygulanmıştır. Ölçüm neticesinde geçirgenlik ve iletkenlik parametrelerinin hücrelerin fiziksel durumlarını yansıttığı görülmüştür. Rezonans frekans kaymaları ve sinyal zayıflamaları incelenerek sitotoksik madde uygulamalarının hücrelerin elektromanyetik özellikleri üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar S parametrelerinde değişikliğin algılanmasının hücre ölüm oranlarını belirlemede etkili bir yöntem sunduğunu ve mevcut hücre sayım tekniklerine alternatif olarak kullanılabileceğini göstermektedir.



Şekil 3.15. Dalga kılavuzu ölçümü

PANC-1 hücre hattına Quercetin sitotoksik maddesi uygulanması ile hazırlanan numunelerin elektromanyetik davranışları ile ilgili literatürde bilgi bulunmaması sebebiyle çeşitli ölçümler yapılarak hem literatüre kazandırmak hem de sensör üretiminde kullanılacak gerekli bilgilerin elde edilmesi amaçlanmıştır. Koaksiyel prob ile yapılan ölçümlerde elde edilen dielektrik sabiti (ϵ') ve kayıp tanjantı ($\tan \delta$) parametrelerindeki değişim ve dalga kılavuzu ile yapılan ölçümlerde elde edilen S11, S12, S21, S22 parametrelerindeki değişim PANC-1 kanser hücre hattına uygulanan farklı sitotoksik madde miktarlarında canlı kalan hücrelerin algılanabilmesi için metalmalzeme tabanlı biyosensörün etkili olacağını göstermiştir.

3.5. Sensör Tasarımı

Önceki bölümde farklı sitotoksik ajan dozları uygulanmış kanser hücre kültürlerinin frekansa bağlı, kantitatif dielektrik özellikleri elde edilmiştir. Bu bölümde, elde edilen deneysel verilerin, yüksek hassasiyete sahip bir SRR biyosensörünün sayısal tasarımı ve optimizasyonu için kullanımı ve sensörün tasarım aşamaları açıklanmaktadır.

SRR tabanlı sensörler, yüksek hassasiyetleri ve küçük hacimli sıvı örneklerle çalışabilmeleri sayesinde biyolojik ve kimyasal analizlerde öne çıkmaktadır. Mikroakışkan teknolojilerle birleştirildiklerinde gerçek zamanlı, temassız ve hızlı ölçümler için güçlü bir olanak sunarlar. SRR ve CSRR yapıları, mikroakışkan kanallar ile entegre edilerek sıvıların özelliklerini hassasiyetle ölçebilir. SRR tabanlı sensörler, biyolojik örneklerin tespiti ve karakterizasyonunda kullanılabilir. Sensörler vasıtasıyla örneklerin rezonans frekansındaki kaymaları algılanır. Etiket gerektirmeyen, hızlı ve hassas biyosensör uygulamalarına imkan oluşturur.

Sensör geliştirme aşamasına geçmeden önce ihtiyaçlar net olarak belirlenmelidir. Tasarım uygulamanın amacına uygun olmalıdır. Çalışma frekansı, algılanacak ürün özellikleri, ürünün katı/sıvı olma durumu, sıcaklık değeri, algılanacak ürün boyutu vb. temel kriterler göz önünde bulundurulmalıdır. Teknik açıdan karar verebilmek için algılanacak ürünün özellikleri çok önemlidir. Sensör tasarımı öncesinde numunelerin dielektrik özelliklerinin koaksiyel prob yöntemi ile ölçülmesi bu hazırlık aşamalarından biridir. Dalga kılavuzu ile numunelerin S parametrelerinde değişiklik durumu kontrol edilerek sensör ile algılanabilmesinin olağan olduğu görülmüştür. Hücre kültürlerinin sıvı halde bulunması da tasarımı belirlerken ciddi etki sağlamıştır.

Metamalzemeler dalga boyu altı yapılardır. Bu yüzden, hücre boyutları çalışma merkez frekansının dalga boyundan küçük olmalıdır. Önerilen sensör yapılarının rezonatör parçaları tasarlanırken bu kritik nokta dikkate alınmıştır. Bilgisayar ortamında tasarım yapılırken merkez frekans çeyrek dalga boyundan küçük boyutlar belirlenmiştir.

Sensörün çalışma frekans aralığı hassas noktalardan bir diğeridir. Frekans aralığı numunelere göre belirlenmiştir. Numunelerin elektriksel özelliklerinin değişiminin yakalandığı frekans değerleri alınmıştır. Sensörün kompakt yapıda olması, tasarımın, üretim ve kullanımının kolay olması mühimdir. Çok küçük yapıların üretim aşamaları zorlaşacaktır ve rahat kullanılamayacaktır. Çok büyük boyutlu yapılarda da üretim zorluğu yaşanmasa dahi kullanım zorluğu yaşanacaktır ve malzeme gideri artacaktır. Tüm bu ölçütler değerlendirilmiştir ve yüksek frekans değerleri tercih edilmemiştir. Yüksek

frekans değerlerinde daha küçük dalga boyuna sahip elektromanyetik dalgalar oluşacağı için sensör boyutunun epey küçük olması gerekecektir. Geniş frekans aralığında çalışabilmenin avantajlı durumu da düşünülerek sensörümüz dar bantlı tasarlanmamıştır fakat merkezi çalışma frekans aralığı, bahsedilen ölçütler ve analizler neticesinde 1 GHz-3 GHz olarak belirlenmiştir.

Bir sensör yapısını tasarlamamanın bir diğer ehemmiyetli aşaması, rezonatör geometrisinin belirlenmesi sürecidir. Özellikle metalmalzemeye tabanlı sensörlerde, iletken hatlar ile etkileşim gösteren bölünmüş yarık yapılar, tasarımın kritik bir bileşenini oluşturur. Bu unsurlar, sensörün rezonans frekansını belirleyen temel faktörlerdir. Boşluklar kapasitif etkiye sebep olurken çizgiler endüktif bir etki oluşturur. Yapıların, frekansla değişken elektriksel özelliklere sahip numunelerle etkileşime girmeleri sağlanır. Bu etkileşimin neticesinde, numunelerin neden olduğu kapasitif ya da endüktif değişimler, rezonans frekansında kaymalarla görülebilmektedir. Tasarımın rezonatör boyutu değiştirilerek çalışma frekans aralığında optimum rezonans frekans noktası belirlenebilir. Çalışmadaki sensör yapısı basit bir RLC devresi gibi davranan eşdeğer devre şemasına sahiptir. Sensör algılama bölgesine yerleştirilen numunenin geçirgenliği (ϵ_n) şu şekilde ifade edilebilir:

$$\epsilon_n = \epsilon'_n - j\epsilon''_n \quad (3.1)$$

Sensör yapısının toplam kapasitansı (C_t), algılama bölgesine yerleştirilen numunenin dielektrik sabiti (ϵ'_n) ve dielektrik kaybının ($j\epsilon''_n$) fonksiyonudur. C_0 çevresel uzaydan kaynaklanan kapasitif etkilerdir, $C_{eş}$ RLC devresinin eşdeğer kapasitans değeridir ve C_s ise algılama bölgesinin kapasitif etkisini ifade eder.

$$C_t = f_c(\epsilon'_n, \epsilon''_n) \quad (3.2)$$

$$C_t = C_0 + C_{eş} + \epsilon_n C_s \quad (3.3)$$

Sensörün toplam endüktans değeri şu şekilde ifade edilebilir. Burada $L_{eş}$ RLC devresinin eşdeğer endüktans değeri ve M rezonatör ile iletim hatları arasında oluşan karşılıklı endüktanstır. M, sadece iletim hattı modeliyle tasarlanan sensör yapısında kullanılır.

$$L_t = L_{eş} + M \quad (3.4)$$

Karşılıklı endüktans (M) şu şekilde tanımlanabilir:

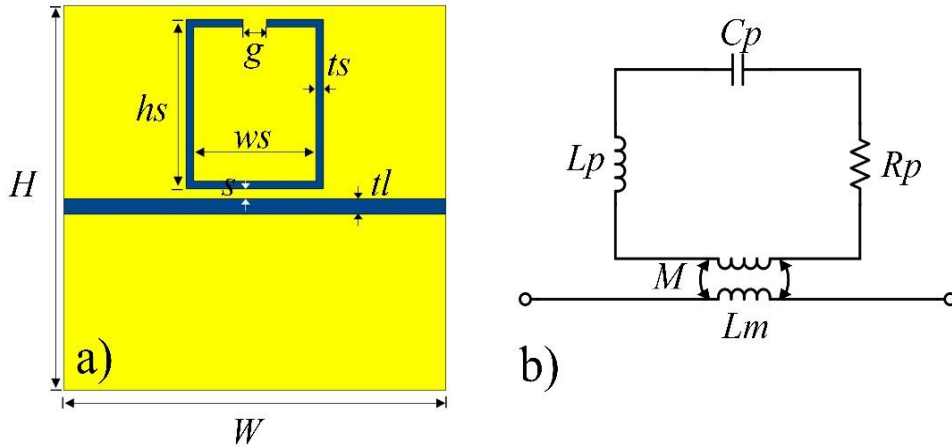
$$M = k\sqrt{L_{eş} \times L_s} \quad (3.5)$$

Burada k kuplaj katsayısı, L_s ise iletim hattını endüktansıdır. Sensör yapısının toplam direnci (R_t) olarak tanımlanır. Yapının rezonans frekansı (f_0) şu şekilde yazılabilir:

$$f_0 = \frac{1}{2\pi\sqrt{L_t \times C_t}} \quad (3.6)$$

Pankreas kanser hücre hattı içeren numunelerin dielektrik karakterizasyonu ölçüldükten sonra, elde edilen veriler kullanılarak bölünmüş halka rezonatör tabanlı sensör tasarlanmıştır. Önerilen sensörün konfigürasyonu ve eşdeğer devre şeması Şekil 3.16'da verilmiştir. Toprak zemin, alttaş malzeme ve rezonatör tabakası olmak üzere üç katmandan oluşmaktadır. Alttaş olarak kalınlığı 1,6 mm, dielektrik sabiti 4,3 ve kayıp tanjantı 0,02 olan FR4 tipi malzeme tercih edilmiştir.

Sensör yapısı, Şekil 3.16(a)'da gösterilen iki portlu iletim hattına entegre edilmiş SRR'den oluşmaktadır. Şekil 3.16(b)'de SRR tabanlı sensörün çalışma mekanizmasını anlamak için eşdeğer devre şeması da eklenmiştir. SRR'nin R_p , L_p ve C_p olan seri RLC devre şeması karakteristiğine sahip olduğu bilinmektedir (Altıntaş vd., 2019; Sim vd., 2024; Withayachumnankul vd., 2013).



Şekil 3.16. (a) SRR tabanlı sensör yapısı ve (b) eşdeğer devre şeması

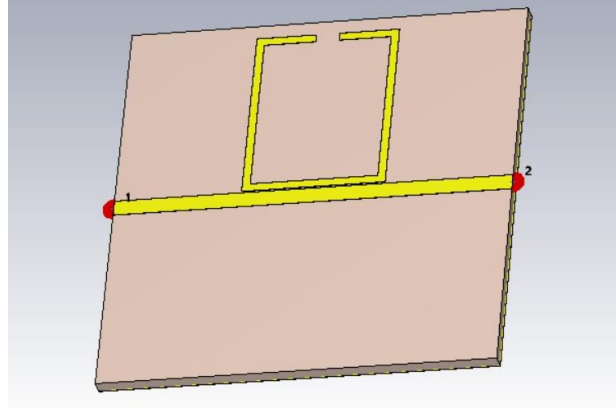
İletim hattının endüktif elemanı, SRR'nin endüktif kısmıyla karşılıklı olarak etkileşir ve Şekil 3.16(b)'de gösterilen L_m ile gösterilir. Sistemin eşdeğer empedansı şu şekilde gösterilebilir;

$$Z_{e\varnothing} = R_p + j\omega L_{e\varnothing} \frac{1}{j\omega C_p} \quad (3.7)$$

Burada, L_p ve L_m arasındaki karşılıklı (M) kuplajdan elde edilen $L_{e\varnothing}$ toplam endüktanstır. Numunelerin dielektrik değişiminden yararlanmak için sistemin kapasitif kısmı dinamik bölge olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle, SRR'nin kapasitif bölünmüş kısmında bir sensör katmanı oluşturulmuştur. Toplam kapasitans Eşitlik (3.3)'teki gibi ifade edilebilir. C_0 , çevreleyen ortamın genel kapasitansı ve $\varepsilon_n C_s$, sensör katmanına yerleştirilen PANC-1 kanser hücresi örneklerinin kapasitif değeridir. ε_n gerçek (ε'_n) ve sanal (ε''_n) kısımlardan oluşan örneklerin geçirgenliğini temsil eder. Son adımda, genel sistemin rezonans frekansı, örnek geçirgenliğinin gerçek ve sanal kısımlarının bir fonksiyonu olarak Eşitlik (3.6)'da verildiği gibi kabul edilebilir.

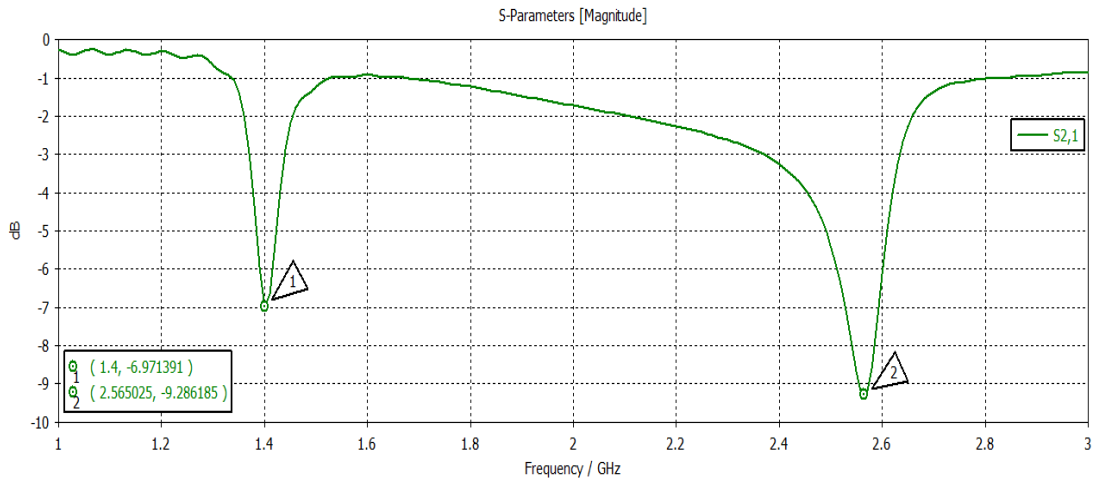
Sensör yapısal tasarımı ve simülasyonları CST Studio Suite Programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. CST Studio Suite, Dassault Systemes'in SIMULIA markası altında geliştirdiği, elektromanyetik bileşenlerin ve sistemlerin tasarımı, analizi ve optimizasyonu için yüksek performans sunan analiz yazılımıdır. Tasarım programları, fiziksel prototipleme maliyetlerini ve zamanını azaltır. Karmaşık EM yapıların sanal ortamda modellenmesine olanak tanır. Yazılım kullanarak tasarlanan yapıların (antenler, sensörler, metalmalzemeler vb.) geri dönüş kaybı (S11), iletim katsayısı (S21), kazanç, ışınım paternleri, yüzey akımları gibi hayati performans parametrelerini yüksek doğrulukla hesaplanabilir. Sensör yapısının frekans tepkisini ve S parametrelerini elde etmek için yazılımın desteklediği yöntemler kullanılmıştır. Geniş bir frekans spektrumundaki davranışı tek bir simülasyon ile verimli ve yüksek doğrulukla hesaplayabilir. Sensör yapısına tanımlanan portlardan geçici bir sinyal uygulayarak, sistemin yansıma ve iletim katsayıları gibi S-parametrelerini hesaplar.

Yapılan tüm deneysel çalışmalar, matematiksel hesaplar ve incelenen tasarım ilkeleri neticesinde sensör yapısı uygulama üzerinde tasarlanmıştır. Tasarımın ön yüzüne ait bir görsel Şekil 3.17'de verilmiştir. Görselde 1 ve 2 rakamları ile gösterilen kırmızı alanlar iletim hattının iki farklı besleme noktasını belirtmektedir. Bu noktalardan konnektör ile bağlantı yapılacaktır. Sarı renkli gözüken kısımlar FR4 malzemenin üst katmanındaki bakır kısmı belirtmektedir, diğer alanlardaki bakır kaldırılarak istenilen ölçü ve şekilde iletim hattı ve SRR yapısı kartın basımı sırasında gerçekleştirilecektir.



Şekil 3.17. SRR sensörün ön yüz tasarımı

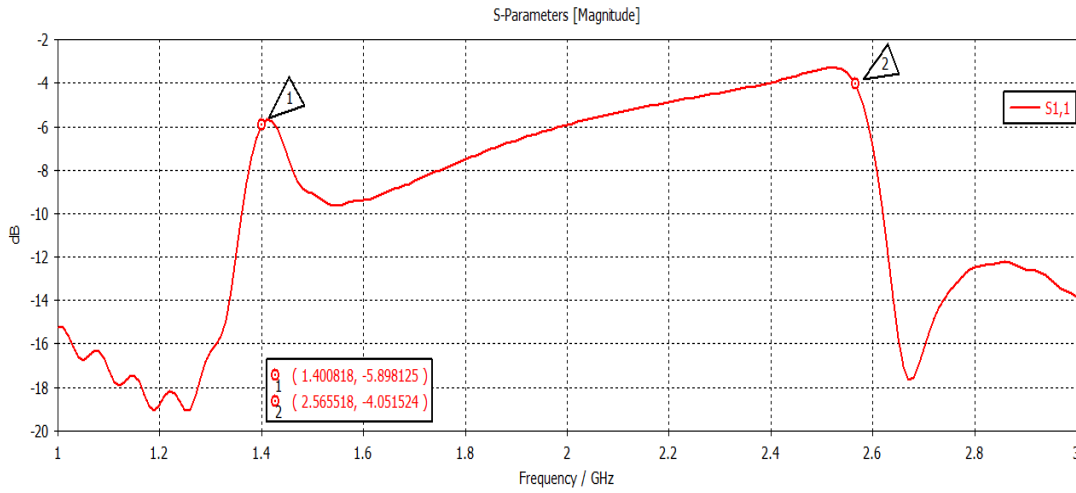
Altaş malzeme seçimi, sensör geometri çizimi, port bağlantıları, mesh ayarlamaları gibi işlemler sonrasında simülasyon çalıştırılarak sensör tasarımımızın parametreleri incelenmiştir. İlk olarak S parametrelerine bakılmıştır. Hazırlanan hücre kültürlerinin g ile belirtilen boşluğa damlatılması sonucunda S21 parametresindeki değişim kullanılacağı için S21 parametresi kontrol edilmiştir. Simülasyon sonucu elde edilen S21 parametresi Şekil 3.18’de gösterilmiştir.



Şekil 3.18. S21 grafiği

1 GHz-3 GHz çalışma frekans aralığında tasarlanan sensörümüz iki frekans değerinde rezonansa girmektedir. 1,4 GHz ve 2,5 GHz rezonans frekanslarıdır. Bu noktalarda sırası ile -6,97 dB ve -9,28 dB değerleri ölçülmüştür. Sensör tasarımının çift modlu rezonans frekansı üretmesi, algılama performansını artıran önemli bir avantajdır. Tek modlu rezonatörlerde sadece bir frekansa karşı duyarlılık elde edilirken, çift modlu yapı sayesinde sensör hem elektrik alan dağılımının hâkim olduğu kapasitif rezonans

moduna hem de manyetik alan yoğunlaşmasının belirgin olduğu endüktif rezonans moduna aynı anda tepki verebilmektedir. Bu durum, numunenin dielektrik özelliklerinde meydana gelen değişimlerin iki farklı fiziksel mekanizma üzerinden izlenebilmesine olanak tanır. Böylece sensör, farklı tür numune etkileşimlerinde daha geniş bir aralıkta ölçüm yapılabilir. Ek olarak rezonans frekansındaki kaymanın her iki mod için karşılaştırılabilir olması, ölçümlerin tekrarlanabilirliğini ve doğruluğunu artırmaktadır. Çift modlu rezonans karakteri, aynı sensör geometrisi ile hem yüksek hassasiyet hem de seçicilik sunarak tek modlu rezonatörlere kıyasla daha güvenilir frekans kayması takibi yapılmasını sağlamaktadır. Bu nedenle, çift modlu yapı biyosensör uygulamalarında özellikle dielektrik değişimlerin düşük seviyede olduğu hücre kültürü ölçümlerinde ölçüm hassasiyetini artıran kritik bir tasarım özelliği olarak değerlendirilebilir. İkinci frekans değerimiz olan 2,5 GHz değerinde daha düşük dB değeri elde edilmesi iletimin daha zayıf olduğunu gösterir ve bu noktada ölçüm hattına daha iyi kuplajlama sağlanmıştır. Performans incelemesi yaparken S21 tek başına yeterli değildir çünkü burada yalnızca iletim parametresi hakkında bilgi ediniriz. S11 kontrolü ile yansıma parametresini de kontrol etmek gerekir. S11 grafiği Şekil 3.19’da verilmiştir.

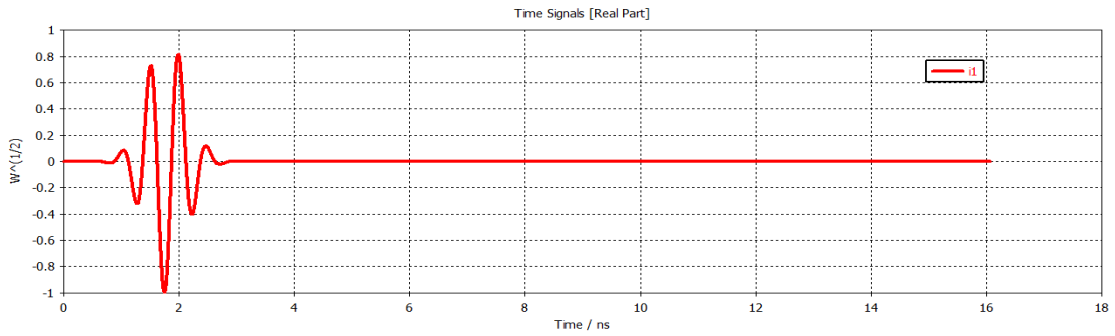


Şekil 3.19. S11 grafiği

Sıradan bir anten yapısında S11 değerinin -10 dB’den daha küçük olması beklenir çünkü yansıma durumu tercih edilmez. Yansımayan enerjinin iletilmesi durumu oluşacağı için genelde S11 ve S21 sonuçları zıttır. Fakat sensör tasarımıımızda iletim ve yansımanın yanında kaybolan enerji faktörü de vardır çünkü arada numune bulunmaktadır, bu yüzden enerjiye de bakmak gerekir. Kaybın/absorpsiyonun yüksek olduğu SRR + numune gibi

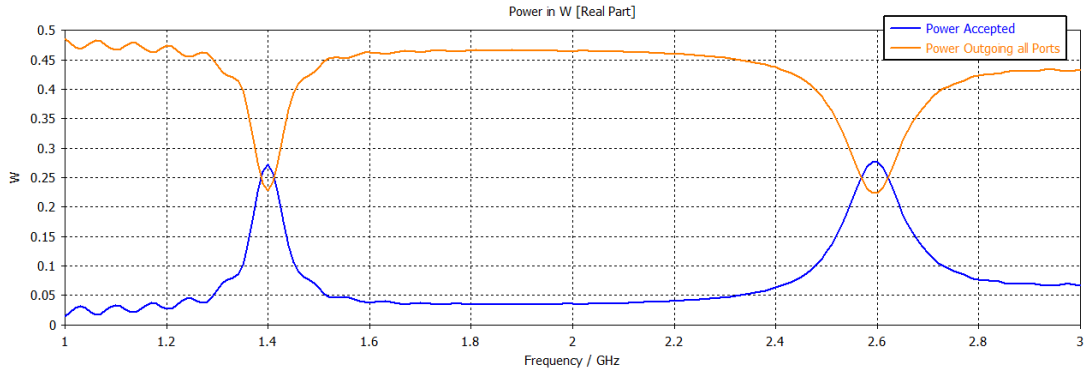
algılayıcı tip rezonatörlerde, rezonans frekansında enerji yapı içinde emilmektedir. Bu yüzden S21 yani iletim düşükken S11 orta seviyelerde kalabilir enerjinin bir kısmı kaybolabilir, soğurulabilir. Tüm bu sonuçlar biyolojik numunelerin algılanmasına olanak sağlamaktadır.

Port 1'den sisteme gönderilen uyarıcı darbe sinyali Şekil 3.20'de gösterilmiştir. Yaklaşık 1,5–2,5 ns aralığında güçlü bir darbe sinyali bulunmaktadır. Bu sinyal, uyarıcı enerjinin sisteme uygulandığı zamanı gösterir. 3 ns sonrasında sinyalin sifıra dönmesi, sistemin artık yalnızca yapıdan yansıyan/iletim yapan sinyalleri ürettiği anlamına gelir.



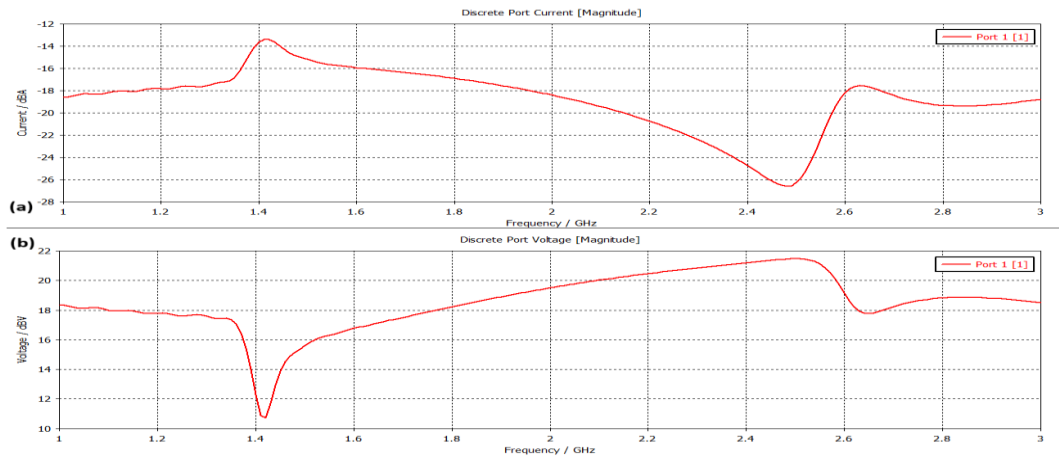
Şekil 3.20. Port sinyal grafiği

Çıkış portlarındaki sinyallerin genliği ve faz farkı, rezonatörün iki port arasında elektromanyetik kuplaj oluşturduğunu kanıtlamaktadır. Güç analizi grafikleri incelendiğinde, rezonans frekanslarında enerjinin büyük bölümünün sensör yapısı tarafından emildiğini doğrulamaktadır. Şekil 3.21'de verildiği gibi tüm portlardan çıkan güç ile kabul edilen güç değerleri frekansa bağlı olarak incelenmiştir. Sonuçlara göre 1,4 GHz ve 2,6 GHz civarında kabul edilen güç maksimum, çıkan güç ise minimum seviyededir. Bu durum, SRR sensör yapısının bu frekanslarda rezonansa girerek enerjiyi kendi yapısında depoladığını göstermektedir. Rezonans frekanslarında yapının dışarıya enerji iletimi azalmıştır. Böylece sensörün elektromanyetik alan yoğunluğu artmıştır. Elde edilen sonuçlar, sensörün bu iki frekansta yüksek alan konsantrasyonu oluşturduğunu ve biyolojik numunelerin dielektrik değişimlerine karşı yüksek duyarlılık gösterebileceğini ortaya koymaktadır.



Şekil 3.21. Tüm portlardan çıkan güç ve kabul edilen güç grafiği

Şekil 3.22’de verilen port akım-gerilim davranışı incelendiğinde, 1,4 GHz frekansında empedansın düşük, akım genliğinin yüksek ve gerilim değerinin düşük olması sensörün bu bölgede kapasitif karakter sergilediğini göstermektedir. Buna karşılık 2,5 GHz civarında empedansın yükselmesi ve gerilim genliğinin artması, yapının manyetik alan bileşenlerinin baskın olduğu endüktif rezonans modunda çalıştığını ortaya koymaktadır. Bu iki modun birlikte varlığı, sensörün hem elektriksel hem manyetik alan etkileşimlerine duyarlı çift modlu rezonans yapısına sahip olduğunu ve böylece farklı dielektrik ortamlardaki değişimleri yüksek hassasiyetle algılayabildiğini göstermektedir.

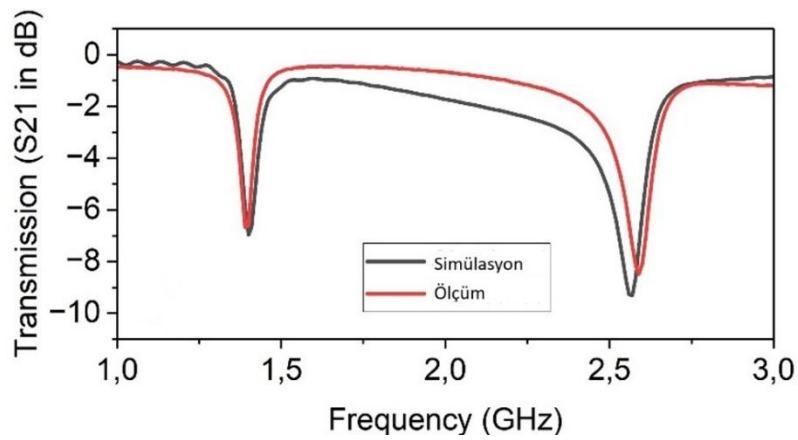


Şekil 3.22. Port (a) akım ve (b) gerilim grafikleri

Elde edilen tüm sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde sensörün 1,4 GHz ve 2,5 GHz olmak üzere iki belirgin rezonans moduna sahip olduğu, bu modların sırasıyla kapasitif ve endüktif karakter taşıdığı görülmüştür. Rezonans frekanslarında sistemin önemli miktarda gücü absorbe ettiği, bunun da sensörün yüksek alan yoğunluğu oluşturduğunu göstermektedir. Sensörün bu çift modlu yapısı, farklı dielektrik özelliklere

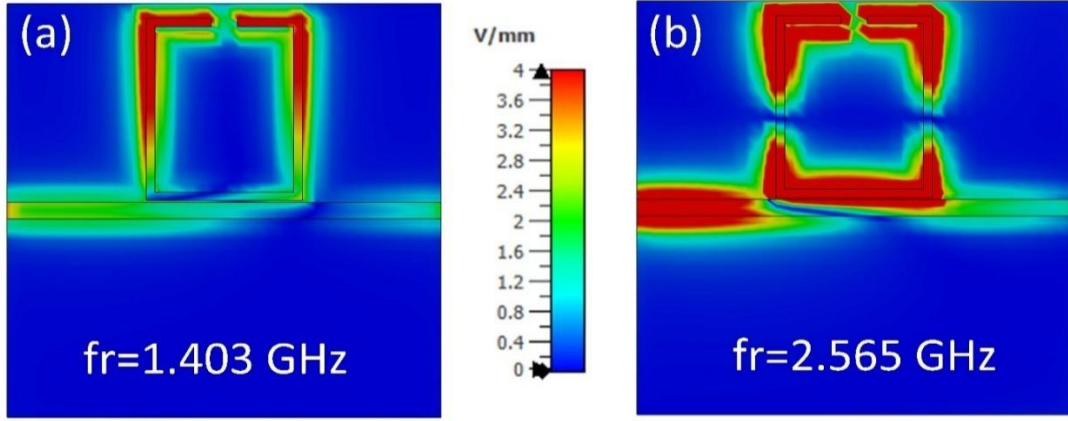
sahip numunelerde meydana gelecek frekans kaymalarının hassas biçimde izlenmesine olanak tanır. Böylece sensör, biyolojik ortamların dielektrik karakterizasyonu ve hücre kültürü temelli algılama uygulamaları için uygun bir aday olduğunu ortaya koymaktadır.

Şekil 3.23'te SRR tabanlı sensör yapısının 1-3 GHz frekans aralığındaki iletim tepkisi analiz edilmiştir. Simülasyon yoluyla elde edilen sonuçlar ile ölçülen deneysel veriler arasında yüksek düzeyde bir uyum olduğu teyit edilmiştir. Yapı, 1,4 GHz ve 2,5 GHz olmak üzere iki farklı rezonans frekansı sergilemektedir. İletim (dB) cinsinden değerlendirildiğinde, 2,5 GHz'deki rezonansın 1,4 GHz'e kıyasla daha güçlü bir sönümlenme (daha derin bir rezonans çukuru) oluşturduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3.23. Simülasyon ve ölçüm S21 sonuçlarının karşılaştırılması

Bu iki rezonans frekansındaki elektrik alan dağılımları ise Şekil 3.24'te incelenmektedir. 1,403 GHz'de, elektrik alanın SRR yapısının iç kenarları çevresinde yoğunlaştığı görülmektedir. Bu durum, yaklaşık 3,6 V/mm maksimum alan şiddetine sahip güçlü bir yerel rezonansa işaret etmektedir. Buna karşılık, 2,565 GHz'de elektrik alan, yapı boyunca daha simetrik bir dağılım sergileyerek yaklaşık 4 V/mm'lik bir tepe yoğunluğuna ulaşmaktadır. Bu ikinci frekansın, daha yüksek mertebeden bir modu temsil ettiği anlaşılmaktadır.



Şekil 3.24. (a) 1,403 GHz ve (b) 2,565 GHz rezonans frekanslarında elektrik alan dağılımları

Bu bulgulardan hareketle, sensör geometrisinin ve malzeme özelliklerinin, elektrik alan dağılımı üzerinde belirleyici bir rol oynadığı sonucuna varılabilir. Dolayısıyla, önerilen yapı farklı frekans rejimlerinde çalışarak çevresel değişimleri algılayabilen hassasiyet uygulamaları için önemli bir potansiyel taşımaktadır.

3.6. Sensör Üretimi

Önceki bölümde CST Studio Suite yazılımı ile tasarımı optimize edilen ve en yüksek hassasiyeti gösterdiği doğrulanan SRR biyosensörün prototipi, baskılı devre kartı (Printed Circuit Board-PCB) üretim teknikleri kullanılarak imal edilmiştir. Tasarlanan mikrodalga biyosensörün fiziksel prototipi, LPKF hızlı prototipleme sistemleri kullanılarak, standart bir FR4 alt tabaka üzerinde hibrit bir üretim tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Üretim süreci, CST Studio Suite yazılımında tamamlanan sensör tasarımının, endüstriyel üretim standardı Gerber dosyalarına dönüştürülmesiyle başlamıştır. Üretim süreci, mekanik kazıma (milling) ve lazer ablasyonu (laser ablation) olmak üzere iki ana adımı içermektedir.

İlk olarak, 35 μm bakır kaplamalı FR4 levha, KTO Karatay Üniversitesi Akıllı Teknolojiler Merkezi (AKİTEK) bünyesinde bulunan Şekil 3.25'te gösterilen LPKF ProtoMat S104 kazıma makinesinin çalışma tablasına vakum ile sabitlenmiştir.



Şekil 3.25. Kullanılan PCB kazıma makinesi

Üretim, Gerber dosyalarından alınan koordinatlara göre, referans nokta deliklerinin ve sensör tasarımında g ile gösterilen numune sıvısının damlatılacağı bölmenin yüksek devirli bir matkap ucu ile açılmasıyla başlamıştır. Sensör yapısının hassas olması, mikrodalga frekanslarında çalışacak olması ve biyolojik numune ölçümü yapacak olmasından kaynaklı bakır kaldırma işlemleri kazıma yöntemi ile yapılmamıştır, daha hassas olan lazer yöntemi tercih edilmiştir. Mekanik işlemlerin ardından, sensörün kritik ve yüksek hassasiyet gerektiren bölgelerinin oluşturulması için levha Şekil 3.26'daki LPKF ProtoLaser U4 makinesine aktarılmıştır.

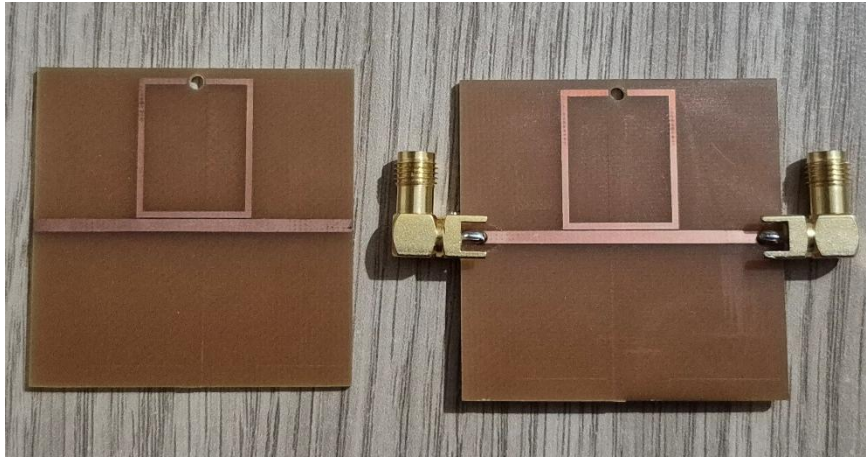


Şekil 3.26. Kullanılan PCB lazer işleme makinesi

Lazer sistemi, ProtoMat ile açılan referans delikleri ve kartın kenarlarını kullanarak kendini mevcut desene yüksek hassasiyetle hizalamıştır. Lazer ışını yazılım tarafından yönlendirilerek, kaldırılması hedeflenen bakır kısımları lazer ablasyonu yöntemiyle hassas bir şekilde yok etmiştir. FR4 alttaşa termal veya mekanik hasar vermeden, keskin kenarlara ve yüksek çözünürlüğe sahip iletken yapıların oluşturulmasını pürüzsüz bir kaldırma işlemi ile sağlamıştır.

Bu işlemlerin tamamlanması ile sensör kartı tekrar ProtoMat makinesine alınmıştır. Kontur kazıma ucu kullanılarak, sensörün dış sınırları kesilerek FR4 levhasından fiziksel olarak ayrılması sağlanmıştır. PCB tablasına 6 adet sensör baskısı yapılmıştır.

Sensör tasarımında kalınlığı 1,6 mm, dielektrik sabiti 4,3 ve kayıp tanjantı 0,02 olan FR4 tipi malzeme kullanılmıştır. FR4, elektronik devre endüstrisinde PCB üretiminde alttaş olarak en yaygın kullanılan malzemedir. Düşük maliyeti, kolay erişilebilirliği ve standart PCB üretim süreçlerine tam uyumluluğu nedeniyle tercih edilmiştir. Cam elyaf takviyeli epoksi reçine bazlı kompozit malzemedir.



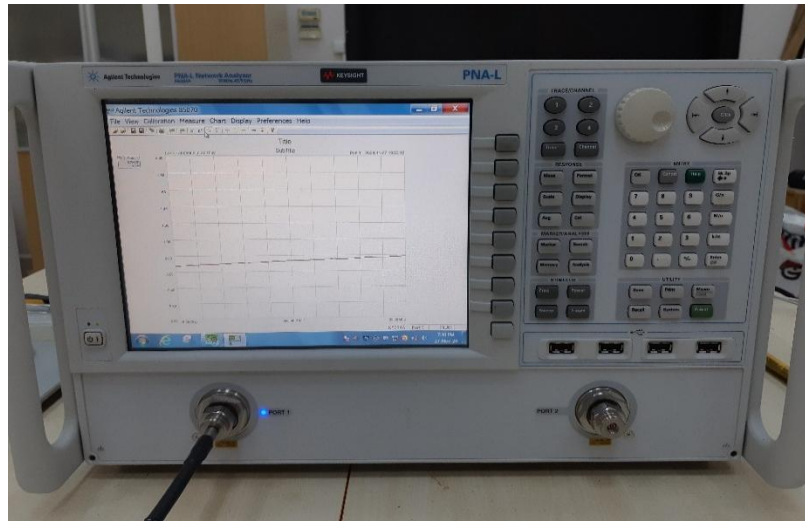
Şekil 3.27. Üretimi tamamlanan SMA konnektörsüz ve konnektörlü sensörler

Üretimi tamamlanan sensör prototipinin sinyal giriş/çıkış portlarına 50 Ω SMA konnektörler lehimlenerek sensör, VNA ile yapılacak ölçümler için hazır hale getirilmiştir. Şekil 3.27’de sırasıyla üretimi tamamlanan fakat SMA konnektörler lehimlemesi yapılmayan sensör ve SMA konnektör lehimlemesi yapılarak kullanıma hazır haldeki sensör gösterilmiştir.

3.7. SRR Biyosensör ile Hücre Hatlarının Ölçümleri

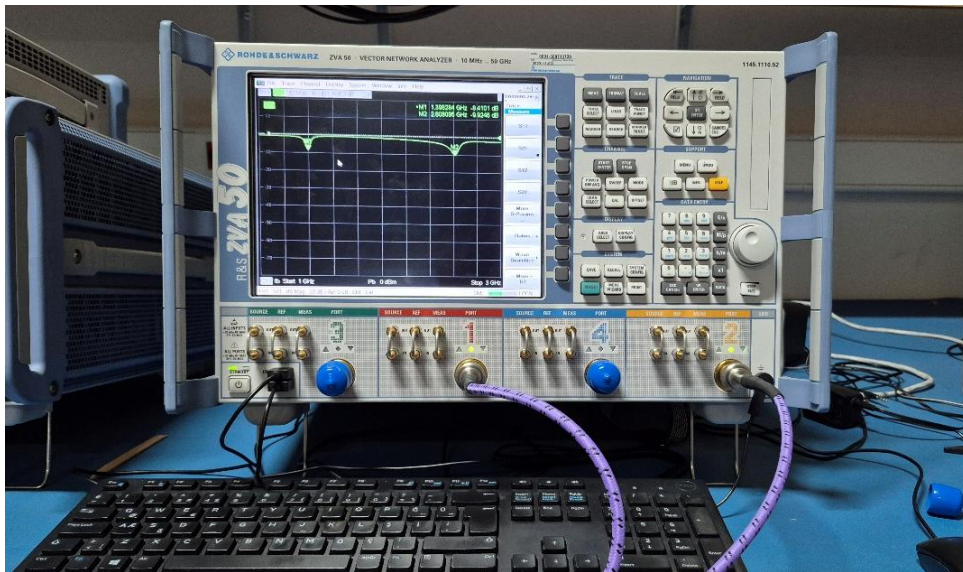
Bu bölümde, tasarımı ve üretimi yapılan SRR biyosensör kullanılarak, hazırlanan Quercetin'e maruz kalmış PANC-1 ve BxPC-3 hücre süspansiyonlarının mikrodalga yanıtlarının nasıl ölçüldüğü açıklanmaktadır. Ölçümlerin amacı, farklı hücre canlılığı seviyelerinin, sensörün rezonans frekansında ve iletim katsayısında ne kadar belirgin bir değişikliğe yol açtığını saptamaktır.

Ölçüm sonuçlarının doğruluğunu teyit etmek ve tutarlılığını gösterebilmek amacıyla farklı zamanlarda farklı VNA kullanılarak aynı tür sensörün farklı ürünleri ile ölçümler yapılmıştır. Hücre kültürleri her seferinde, ilgili bölümde anlatıldığı gibi prosedüre uygun şekilde hazırlanmıştır. PANC-1 ve BxPC-3 hücre hatları ile oluşturulmuş kültürler ölçülerek sensörün iki farklı pankreas kanser türünde etkinliği gösterilmiştir. VNA etkisi, sensör üretim süreçlerinin etkisi, çevresel etkiler gibi faktörler bu sayede değerlendirilmiştir. Keysight N5234A PNA-L network analizör ve Rohde & Schwarz ZVA50 vektör network analizör ile SRR biyosensörün etkinliği test edilmiştir. Şekil 3.28'de gösterilen Keysight N5234A PNA-L 10 MHz-43,5 GHz çalışma aralığına sahiptir. 2 portlu yapısı sayesinde sensörün iki portuna bağlantı sağlanarak S parametreleri ölçülebilmektedir. Temel ve orta düzey ihtiyaçları karşılayan hızlı ve yüksek performanslı bir cihazdır.



Şekil 3.28. Keysight N5234A VNA

R&S ZVA50, özellikle yüksek frekanslı RF ve mikrodalga bileşenlerinin ve sistemlerinin karakteristiklerini ölçmek için yoğunlukla tercih edilen üst düzey bir laboratuvar aletidir (Rohde&Schwarz, 2017). Şekil 3.29'daki kullanılan cihaz 10 MHz-50 GHz frekansları arasında çalışabilmektedir. Cihaz 4 portludur bu sayede sensöre iki porttan bağlantı yapma ihtiyacımızı karşılamıştır. Dinamik aralık, hızlı ölçüm yeteneği ve yüksek çıkış gücü gibi özellikleri ölçümlerimizde katkı sağlamıştır. Hassas bir ürün olması sonuçlarımızın doğruluğunu artırmıştır.



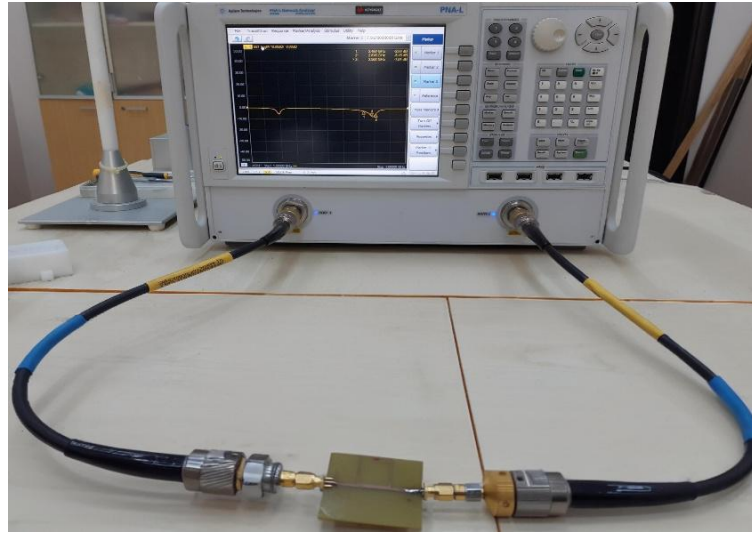
Şekil 3.29. R&S ZVA50 VNA

Tüm ölçümler, sabit ortam sıcaklığında ve elektromanyetik gürültüyü en aza indirmek için kontrollü bir laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiştir. Ölçümler boyunca hücre kültürlerinin mevcut canlılığını koruyabilmesi için gerekli koşullar sağlanarak 37°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Bölüm 3.1'de bahsedildiği şekilde hazırlanan hücre kültürlerine Bölüm 3.2'de anlatıldığı gibi sitotoksik ajan uygulaması yapılmıştır ve Bölüm 3.3'te dielektrik ölçüm sürecinde hücre kültürlerinin taşınması, muhafazası, flasklarda saklanması ve falkon tüplere alınması aşamaları SRR biyosensör testleri sırasında da aynı şekilde uygulanmıştır.

İlk olarak Keysight N5234A VNA ile yapılan test süreci ve sonuçları paylaşılacaktır. VNA'nın 1. ve 2. portlarına cihaz üreticisi tarafından ürünün yanında gönderilen düşük kayıplı, faz kararlı RF koaksiyel kablolar ve konnektörler bağlanmıştır.

Ölçümlerin doğruluğunu sağlamak ve RF kabloları, konnektörler ve adaptörlerden kaynaklanan kayıp ve faz kaymalarını ortadan kaldırmak için VNA, her deney serisinden

önce her iki port için tüm yansıma ve iletim hatalarını düzeltmek adına tam 2-port kalibrasyonuna tabi tutulmuştur. Kalibrasyon, kabloların sensöre bağlandığı konektör uçlarında yapılmıştır. Kalibrasyon kiti kullanılarak standart kısa devre, açık devre, yük ve düz bağlantı kalibrasyon adımları uygulanmıştır. Düz bağlantı, iki port arasında doğrudan, ideal bir bağlantı kurarak iletim ölçümleri içindir. Kalibrasyon sonucunda tasarımı olan SRR biyosensör Şekil 3.30'da gösterildiği gibi SMA portları üzerinden bağlanmıştır ve teste hazırdır. Frekans aralığı 1-3 GHz olarak ayarlanmıştır ve 201 örnekleme yapılmıştır.



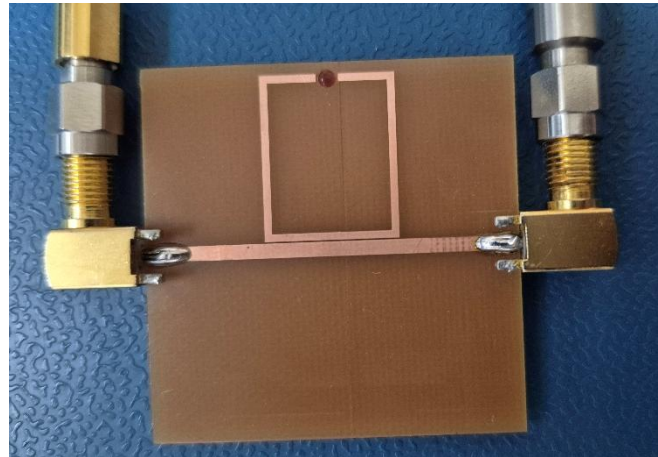
Şekil 3.30. Sensör ölçüm düzeneği

Sensörün boş halde davranışını gözlemlemek ve simülasyona uygunluğunu görmek için birinci adım olarak sensörün numune haznesi boş iken S_{21} ölçümü alınmıştır. Sonuç grafiği Şekil 3.31'de verilmiştir. Burada elde edilen sonuçlar simülasyon ile uyumlu çıkmıştır. Dielektrik özellikleri ve S parametre davranışları bilinen bir malzeme olan suyun ölçümü de yapılmıştır ve beklenen değerler elde edilmiştir.



Şekil 3.32. R&S ZVA50 VNA kalibrasyon kiti

Kalibrasyon sonucunda SRR biyosensör iki portu üzerinden VNA'ya bağlanmıştır ve teste hazırdır. Frekans aralığı 1-3 GHz olarak ayarlanmıştır ve 2000 örnekleme yapılmıştır. Flasklarda hazırlanarak uygun sıcaklık değerinde laboratuvara getirilen ve saklanan BxPC-3 hücre kültürleri hücre kazıyıcı kullanarak plastik tabana yapışan canlı hücrelerin besiyerine karışması sağlanmıştır. Falkon tüplere alınan numunelerin içeriğinin homojen dağılması sağlanarak mikropipetler ve enjektörler ile sensör üzerindeki numune eklenecek alana sabit oranda sıvı numune damlatılmıştır. SMA konnektörler ile VNA portuna RF kablolarla bağlantısı yapılmış ve numune haznesine kültür damlatılmış SRR biyosensör Şekil 3.33'te gösterilmiştir.



Şekil 3.33. VNA bağlantısı yapılmış ve numune içeren ölçüme hazır biyosensör

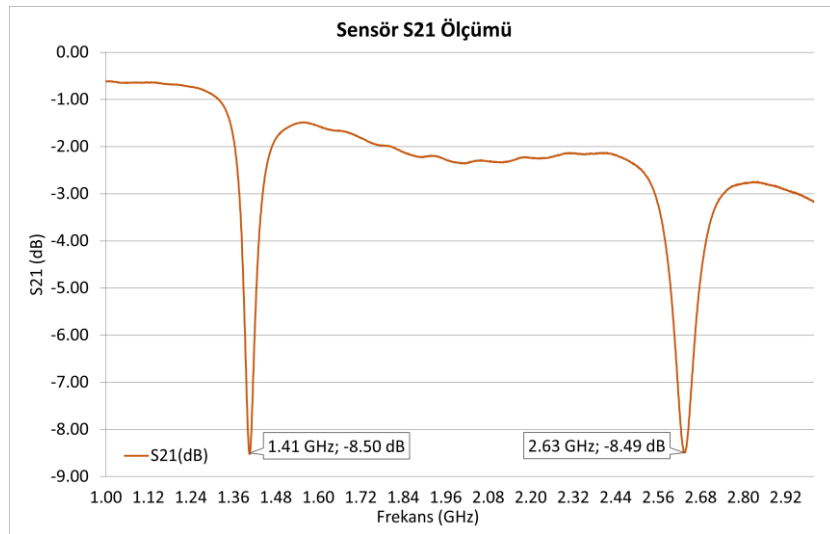
Numunelerin hava kabarcığı içermemesine dikkat edilmiştir. Sensör haznesine damlatılan numune sonrasında VNA ekranındaki sonuç izlenerek S21 sinyalinin kararlı hale gelmesi ile grafik VNA hafızasına kaydedilmiştir. VNA ekranındaki bir grafik Şekil

3.34'te gösterilmiştir. Her ölçüm sonrasında sensör haznesi temizlenmiş ve kurutulmuştur. İstatistiksel olarak güvenilirliği sağlamak adına her deney grubunun ölçümü 5 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3.34. VNA ekranından S21 sonuç grafiği

Ölçümün ilk adımı olarak, boş sensör ölçülerek simülasyon ile karşılaştırılması yapılmıştır ve sonuçlar tutarlıdır. Bir önceki ölçüm ile çok yakın değerler elde edilmiştir. 1,4 GHz frekansında dip noktası biraz daha derin elde edilmiştir, bu durum ölçümün yapıldığı VNA'nın daha hassas olmasından ve bu sensörün üretim aşamasında bakır kaldırma işleminin lazer yöntemi ile yapılmasından kaynaklanabilir. Ölçüm sonucu Şekil 3.35'te verilmiştir. Detaylı ölçüm sonuçları ve tartışması Bölüm 4'te bulunmaktadır.

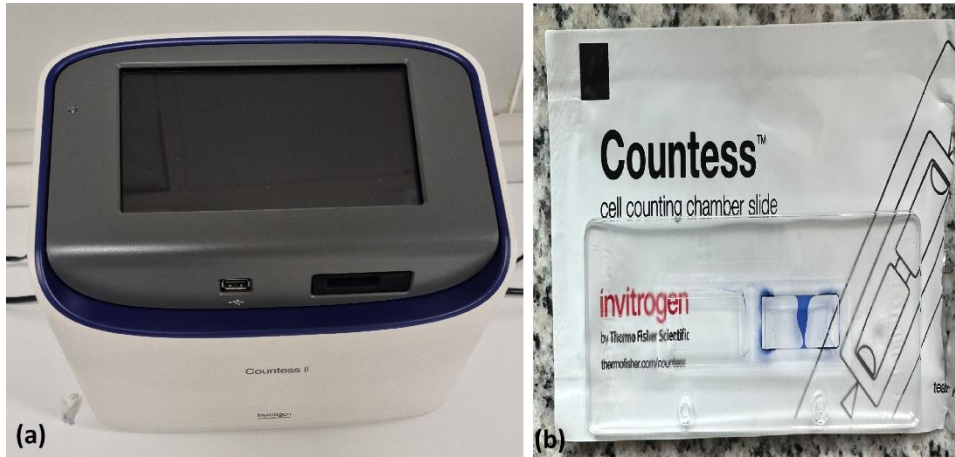


Şekil 3.35. İkinci ölçüm boş sensör S21 sonucu

3.8. Standart Hücre Canlılığı Analizi

Geliştirilen biyosensörün, Quercetin'in sitotoksik etkisine bağlı olarak hücre canlılığında meydana gelen azalmayı kantitatif olarak ölçme yeteneğini doğrulamak amacıyla, sensör ölçümleriyle paralel bir şekilde, altın standart olarak kabul edilen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) analizi gerçekleştirilmiştir.

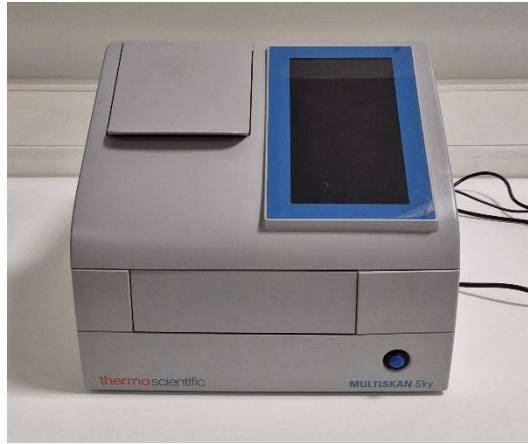
PANC-1 ve BxPC-3 hücreleri, Bölüm 3.1 ve Bölüm 3.2'de açıklandığı gibi, steril 96-kuyucuklu kültür plakalarına kuyucuk başına $\sim 5 \times 10^3$ hücre olacak şekilde, besiyeri içinde ekilmiştir. Hücreler kültüre edilirken uygun sayıya ulaşması durumu Şekil 3.36'da gösterilen Thermo Fisher Countess II cihazı ile sayılarak kontrol edilmiştir. Countess cihazı Trypan Blue metodu kullanır. Canlı hücreler sağlam ve seçici geçirgen bir hücre zarına (membranına) sahiptir. Hücre zarı Trypan Blue boyası gibi istenmeyen kimyasalların hücre içine girişini önler. Ölü hücreler, hücre zarı bütünlüğünü kaybettiği için boyanın hücre içine girmesini engelleyemez. Flakstan alınan hücre üzerine eşit hacimde boya eklenerek kasete yüklenmiştir. Cihaz hücrelerin fotoğraflanması ile görüntü işleyerek analiz eder. Boyayı içine almayan şeffaf hücreleri canlı, koyu renkli hücreleri ölü hücre olarak tanımlar. Tanımladığı hücreleri sayar. Ekranında canlı hücre sayıları gözlemlenmiştir.



Şekil 3.36. (a) Countess II cihazı ve (b) kaset

Plakalar, hücrelerin yapışması ve adaptasyonu için standart inkübatör koşullarında (37°C , $5\% \text{CO}_2$) bekletilmiştir. Adaptasyon süresi sonunda, her bir kuyucuktaki besiyeri aspire edilmiş ve yerlerine $1 \mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{g/ml}$, $500 \mu\text{g/ml}$, $1000 \mu\text{g/ml}$ Quercetin konsantrasyonlarını içeren taze besiyeri eklenmiştir. Plakalar, sensör deneyleriyle eş zamanlı olarak 24, 48 ve 72 saat sürelerince inkübe edilmiştir. Belirlenen her bir

inkübasyon süresinin sonunda, her bir kuyucuğa %5'lik MTT boyası eklenmiştir. Plakalar, canlı hücrelerin mitokondriyal dehidrogenaz enzimlerinin sarı renkli MTT'yi mor renkli formazan kristallerine dönüştürmesi için 3-4 saat boyunca 37°C'de, ışıktan korunarak inkübatörde bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda, kuyucuklardaki MTT içeren besiyeri dikkatlice aspire edilmiştir. Oluşan ve suda çözünmeyen mor formazan kristallerini çözmek için her bir kuyucuğa 200 µl DMSO eklenmiştir. Plakalar, kristallerin tamamen çözünmesini sağlamak amacıyla sunflower mini shaker kullanılarak çalkalanmıştır. Formazan kristalleri tamamen çözüldükten sonra, her bir kuyucuktaki çözeltinin absorbans (Optik Yoğunluk - OD) değeri, Şekil 3.37'de gösterilen Thermo Fisher MultiskanSky mikropilaka spektrofotometre okuyucu kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm dalga boyu 570 nm olarak ayarlanmıştır.



Şekil 3.37. MTT canlılık analizi yapılan spektrofotometre

Hücre canlılık yüzdesi, sitotoksik ajan uygulanmış numunelerin OD değerlerinin, sitotoksik ajan uygulanmamış kontrol grubunun OD değerlerine oranlanmasıyla hesaplanmıştır. Sadece besiyeri, MTT ve DMSO içeren ancak hücre içermeyen kör kuyucukların ortalama OD değeri tüm değerlerden çıkarılmıştır. % Hücre Canlılık hesaplama formülü Eşitlik (3.7) ile verilmiştir (Duran ve Tuncer, 2023).

$$\text{Hücre Canlılığı (\%)} = \frac{OD_{\text{numune}}}{OD_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (3.7)$$

Her bir konsantrasyon ve süre için deney, istatistiksel anlamlılık amacıyla üç (n=3) tekrarlı olarak yürütülmüştür. Elde edilen % canlılık verileri, geliştirilen biosensörden elde edilen mikrodalga parametreleri ile korelasyon analizinde kullanılacak olan doğrulanmış biyolojik yanıtı temsil etmektedir.

Uygulanan prosedürün anlatımı sonrasında canlılığın hesaplanması şu şekilde özetlenebilir: MTT testi ile canlı hücrelerin mitokondrilerindeki enzimler, sarı renkli MTT kimyasalını alıp mor renkli Formazan kristallerine dönüştürür. Burada, çok canlı hücre çok enzim, çok enzim çok mor renk demektir. Ölü hücrelerde enzim olmadığı için sarı renkte kalmaktadır. Mor renkli kristaller hücrenin içinde katı haldedir. Ölçüm yapabilmek için kristalleri DMSO ile çözerek tüm kuyucuktaki sıvıda homojen bir mor çözelti elde edilir. Bu adımda artık canlı hücre sayısı ile doğru orantılı olarak az mor veya çok mor olan çözeltiler elde edilmiştir.

Canlılık hesaplaması için kullanılan cihaz Spektrofotometrik Plaka Okuyucu'dur. Bu cihaz, 96-kuyucuklu plakanın her bir kuyucuğundan belirli bir dalga boyunda ışık geçirir ve kuyucuktaki çözeltinin bu ışığın ne kadarını emdiğinin sonucunu verir. Cihaz, 570 nm dalga boyunda, mor rengin en çok emilim yaptığı dalga boyu, ışık demetini kuyucuğa gönderir. Eğer kuyucuk çok mor ise yani çok canlı hücre varsa, ışığın çoğunu emer ve karşı tarafa az ışık geçirir. Cihaz yüksek absorbans (OD) değeri verir. Eğer kuyucuk az mor ise yani az canlı hücre varsa, ışığın azını emer ve karşıya çok ışık geçirir. Cihaz düşük absorbans değeri verir. Burada kontrol numunesinin ölçümü ile %100 canlılığın OD değeri bulunmuştur. Deney grubunun ölçülen OD değeri ile kontrol OD değeri oranlanarak hücre canlılık oranı tespit edilmiştir.

3.9. Veri İşleme ve Analiz Yöntemleri

Tez çalışmasında, dielektrik ölçümler ve SRR biyosensöründen elde edilen mikrodalga ölçüm parametreleri ile MTT analizinden elde edilen canlılık arasındaki ilişkinin gücünü ve istatistiksel anlamlılığını değerlendirmek için çeşitli analiz yöntemleri ve algoritmalar kullanılmıştır. Tüm deneysel ölçümler en az üç bağımsız deney olarak gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen verilerin korelasyonu yapılarak geleneksel yöntemler ile ulaşılan sonuçlara olan yakınlığımız gösterilerek sensör sisteminin geçerliliği ve tutarlılığı vurgulanmıştır. Aynı koşullar sağlanarak aynı anda uygun laboratuvarlarda yapılan testlerin amacı ölçüm sonuçlarımızı yorumlayabilmek ve geliştirdiğimiz yapının doğruluğunu kanıtlamaktır. Bu testlerde 10, 100, 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarında Quercetin tatbik edilen ve 24, 48, 72 saatlik farklı inkübasyon sürelerine tabi tutulan hücre kültürleri incelenmiştir. Hücre canlılığını belirleyen standart MTT testi sonuçları ile aynı kültürlerden koaksiyel prob aracılığıyla ölçülen dielektrik

permitivitenin gerçek kısmı arasında istatistiksel bir kıyaslama yapılmıştır. Bu iki veri seti arasındaki ilişki, Pearson Korelasyon katsayısı (Benesty vd., 2009) kullanılarak değerlendirilmiştir. Benzer şekilde MTT test sonuçları ile SRR biyosensör ile iki farklı rezonans frekansında elde edilen S21 verileri de korelasyona tabi tutulmuştur.

Makine öğrenmesi algoritmaları, özellikle yüksek hacimli ve karmaşık yapıdaki verilerin sınıflandırılması ve tahmini işlemlerinde etkindir. K-En Yakın Komşu (KNN), Rastgele Orman (RF) ve İndirgenmiş Hata Budamalı Ağaç (REPTree) gibi makine öğrenmesi yaklaşımları, biyomedikal veri analizinde tercih edilen yöntemlerdendir. Bu algoritmalar, konvansiyonel analiz metotlarının aksine verinin barındırdığı karmaşık ve doğrusal olmayan örüntüleri modelleme kapasitesine sahiptir. VNA ile ölçülen dielektrik veriler kullanılarak farklı dozlarda ve sürelerde sitotoksik ajan uygulanmış hücre kültürlerinin makine öğrenmesi algoritmaları ile sınıflandırılması işlemi Weka ortamında yapılmıştır. Bu faaliyet, elektromanyetik ölçüm verilerinin algoritmalara entegrasyonu yoluyla biyomedikal teşhis uygulamalarındaki kullanılabilirliğini göstermek amacıyla yapılmıştır. Geliştirilen sensör ile ölçülen kültürlerin S21 verileri de sınıflandırma algoritmalarına tabi tutulmuştur. Aynı şekilde sensörden elde edilen veriler ile MTT sonucu bulunan % canlılık oranları regresyon analizi ve tahminleme işlemleri ile analiz edilmiştir. Sensörün işlevselliği ve geleneksel yöntemlerle elde edilen veriler ile olan uyumu bu yöntemler sayesinde ispat edilebilmiştir.

MATLAB yazılımı kullanılarak, farklı doz (10, 100, 500, 1000 µg/ml Quercetin) ve inkübasyon sürelerine (24, 48, 72 saat) maruz kalan hücrelerin frekans tepkisi haritalaması yapılmıştır. Farklı frekans noktalarındaki dielektrik değişimlerin istatistiksel anlamlılığını değerlendirmek için ANOVA testleri uygulanmış ve her frekans için etki büyüklüğü hesaplanmıştır. Bu analiz, sitotoksisite seviyelerinin hangi frekans aralıklarında en belirgin dielektrik değişikliğe yol açtığını tespit etmeyi amaçlamıştır.

SRR sensör ölçümleri, elektromanyetik parazit ve biyolojik varyasyonlar gibi nedenlerle gürültü içerebilmektedir. Bu gürültü, rezonans frekansı ve genlik gibi göstergelerin okunmasını zorlaştırabilmektedir. Problemi ortadan kaldırmak ve analiz doğruluğunu artırmak için yapay zeka destekli bir sinyal işleme hattı geliştirilmiştir. Sensörden elde edilen S21 verileri kullanılarak model eğitilmiştir. Model, gürültüyü giderirken rezonans konumu ve biçimini muhafaza edecek şekilde tasarlanmıştır. Modelin performansı, sinyal-gürültü oranı (SNR) iyileşmesi, rezonans kararlılığı ve zaman-frekans temsillerindeki istatistiksel iyileşmeler üzerinden değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu bölümde, Bölüm 3'te detayları sunulan metodoloji kullanılarak elde edilen bulgular sunulmakta ve bu bulgular tartışılmaktadır. PANC-1 ve BxPC-3 pankreas kanseri hücre hatlarının Quercetin ile sitotoksik maruziyeti sonrasında hücre canlılığındaki değişimin ve sitotoksik etkinin, MTT gibi geleneksel biyolojik yöntem ve geliştirilen yeni mikrodalga biyosensör sistemi olmak üzere iki farklı perspektiften analizi yapılarak biyosensörün etkinliği sunulacaktır. İlk olarak, hücre canlılığındaki değişimin, hücre süspansiyonlarının temel elektromanyetik imzası olan dielektrik özelliklerini nasıl değiştirdiği ortaya konulacaktır. Elde edilen dielektrik özellikler ile geliştirilen SRR sensörünün simülasyon ve deneysel ölçüm sonuçları sunulacaktır. Canlılık oranı ile dielektrik değişimlerinin, rezonans frekans kaymasına etkisi gösterilecektir. Tezin hipotezini doğrulamak amacıyla, geliştirilen sensör sisteminin sonuçları MTT analizinden elde edilen biyolojik canlılık verileri ile istatistiksel olarak karşılaştırılacak ve yöntemin geçerliliği, hassasiyeti ve literatürdeki yeri tartışılacaktır. Akabinde, bu dielektrik veriler sinyal işleme ve makine öğrenmesi teknikleriyle analiz edilecektir

4.1. Hücre Canlılığının Dielektrik Özellikler Üzerindeki Etkisi

Tez çalışmasının ilk ve temel amacı, sitotoksositeye bağlı hücre canlılığındaki değişimlerin, hücre kültürlerinin dielektrik özelliklerinde ölçülebilir bir değişikliğe yol açıp açmadığını belirlemektir. Bu amaçla, Bölüm 3.2'de açıklanan VNA ve açık uçlu koaksiyel prob sistemi kullanılarak, farklı doz (10, 100, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$ Quercetin) ve inkübasyon sürelerine (24, 48, 72 saat) maruz bırakılmış PANC-1 hücrelerinin dielektrik sabit (ϵ') değerleri 1-20 GHz frekans aralığında ölçülmüştür.

Gerçekleştirilen işlemler neticesinde, literatüre PANC-1 hücre hattının 4 farklı doz ve 3 farklı inkübasyon süresi sonucunda oluşan hücre kültürlerinin 1-20 GHz arasındaki dielektrik özellikleri kazandırılmıştır. Elde edilen bu veriler sensör tasarımında kullanılmıştır. Burada kazanılan en önemli çıktı kültür ortamındaki canlı hücre yoğunluğu azaldıkça dielektrik değer düşmektedir. 1 GHz-20 GHz arasında tam değer frekansların tüm numuneler için ϵ' değerleri sayfa düzenine uyması için iki kısım olarak Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. 1 GHz-20 GHz arasında tüm numunelerin ε' değerleri-1

f (GHz)	10 μ g/ ml-24h	100 μ g/ ml-24h	500 μ g/ ml-24h	1000 μ g/ ml-24h	10 μ g/ ml-48h	100 μ g/ ml-48h	500 μ g/ ml-48h
1	83,13	82,51	82,87	80,89	83,02	82,37	80,38
2	81,04	80,45	80,53	79,01	81,05	80,20	78,61
3	78,44	78,20	77,89	76,63	78,60	77,70	76,14
4	75,94	75,88	75,63	74,28	76,21	75,03	74,00
5	73,93	73,56	73,78	72,38	74,26	72,87	72,09
6	71,16	71,06	71,13	69,77	71,30	70,28	69,84
7	69,28	69,03	68,91	67,69	69,39	68,02	68,05
8	66,80	66,84	66,58	65,35	67,37	65,77	66,09
9	64,20	64,15	64,28	63,08	64,63	63,43	63,73
10	62,33	62,18	62,30	61,32	62,65	61,34	61,64
11	59,75	59,92	60,05	58,84	60,34	58,90	59,42
12	57,62	57,48	58,06	56,60	58,13	56,72	57,60
13	55,87	55,64	56,42	54,78	56,37	54,83	55,77
14	53,48	53,26	54,18	52,30	54,07	52,77	53,57
15	51,38	51,11	52,45	50,22	51,94	50,50	51,55
16	49,56	49,39	50,44	48,39	50,03	48,87	49,74
17	47,35	47,24	48,59	46,24	48,10	46,76	47,85
18	45,86	45,77	47,19	44,68	46,69	45,24	46,37
19	44,16	44,09	45,73	42,96	45,19	43,61	44,84
20	42,28	42,22	44,17	41,03	43,53	41,74	43,21

Çizelge 4.2. 1 GHz-20 GHz arasında tüm numunelerin ε' değerleri-2

f (GHz)	1000 μ g/ ml-48h	10 μ g/ ml-72h	100 μ g/ ml-72h	500 μ g/ ml-72h	1000 μ g/ ml-72h	kontrol	medium
1	80,70	82,55	82,62	80,08	79,17	83,11	81,70
2	78,74	80,62	80,52	77,97	77,27	81,07	79,68
3	75,99	78,12	78,06	75,68	74,73	78,60	76,87
4	73,57	75,66	75,62	73,28	71,95	76,02	74,97
5	71,56	73,65	73,49	71,15	69,99	74,04	73,14
6	69,03	71,00	71,00	68,86	67,32	71,87	70,70
7	66,82	68,89	68,79	66,63	65,26	69,80	68,72
8	64,53	66,90	66,68	64,56	63,11	67,44	66,87
9	61,81	64,27	64,20	62,25	60,43	65,05	64,41
10	59,94	62,48	62,07	60,13	58,39	62,83	62,43
11	57,83	60,12	59,99	58,05	56,17	60,60	59,97
12	55,64	57,99	57,49	55,67	54,07	58,32	57,65
13	54,04	56,23	55,79	53,91	52,31	56,58	55,84
14	51,54	53,81	53,61	51,99	50,18	54,38	53,61
15	49,42	51,89	51,48	49,83	47,87	52,31	51,37
16	47,74	50,10	49,66	48,08	46,04	50,50	49,94
17	45,64	48,22	47,65	45,87	44,04	48,60	48,05
18	44,14	46,64	46,13	44,20	42,43	47,12	46,35
19	42,46	45,07	44,57	42,45	40,86	45,67	44,66
20	40,63	43,54	42,83	40,52	39,13	44,07	43,07

Tüm numune grupları artan frekansla birlikte azalan bir dielektrik sabit değeri sergilemektedir. Kontrol grubu için ϵ' değeri 1 GHz'de 83,11 iken, 20 GHz'de 44,07'ye düşmektedir. Bu davranış, sulu ve iyonik çözeltilerin mikrodalga frekanslarındaki tipik γ -dispersiyonu ile uyumludur.

Tamamen canlı hücre içeren kontrol grubunun, hücresiz besiyeri medium grubuna kıyasla, ölçülen frekans bandının tamamında daha yüksek dielektrik sabite (ϵ') sahip olması sensör çalışmasının temelini oluşturan gözlem olmuştur. Örneğin, 3 GHz frekansında kontrol numunesi 78,60 ϵ' değerinde iken, medium ortamı 76,87 ϵ' değerindedir. Bu veri ile hücrenin bulunması ve hatta canlı olması durumunda, hiç PANC-1 hücresi bulunmayan ortama göre daha yüksek dielektrik özellik gösterilmektedir. Bu farklılık sayesinde sensörün tespit etmesi mümkündür. Dielektrik özellikte oluşan farklılık, canlı hücrelerin varlığının, bilhassa sağlam hücre zarlarının oluşturduğu kapasitif etkinin, süspansiyonun toplam enerji depolama kapasitesini, yani efektif permitivitenin artırdığını kanıtlamaktadır.

Tezin hipotezini destekleyen bulgu, Quercetin'in sitotoksik etkisine bağlı olarak, kültürlerin dielektrik sabitinin azalmasıdır. En ciddi azalma etkisi en uzun inkübasyon süresi olan 72 saatlik verilerde gözlemlenmiştir. En çok canlı PANC-1 hücresi bulunan kontrol kültürü ile en yüksek doz olan 1000 $\mu\text{g/ml}$ ve en yüksek maruziyet süresi olan 72 saat boyunca Quercetin uygulanan ve en çok hücre ölümünün gerçekleşmesi beklenen numune kıyaslandığında epsilon değerlerinde ciddi farklılık dikkat çekmektedir. Kontrol ile tüm numunelerin ayrı ayrı farkları incelendiği zaman en yüksek farklılık 1000 $\mu\text{g/ml}$ -72h numunesi arasındadır, farkların kolaylıkla incelenebilmesi için Çizelge 4.3'te paylaşılmıştır. Sitotoksikite sonucu hücrelerin ölmesi yani membran yapısının bozulması ile dielektrik özellik azalma sergilemektedir.

Bu veriler, sitotoksik madde yoğunluğunun artması ile dielektrik sabit arasında ilişki olduğunu net şekilde göstermektedir. En yüksek doza maruz kalanın ϵ' değeri, canlı hücrelerin bulunduğu kontrol seviyesinden belirgin bir şekilde düşerek, hücresiz medium seviyesinin altına kadar inmiştir.

Dielektrik sabit değerinde gözlenen doza ve süreye bağlı azalma, sitotoksikite sürecinin biyofiziksel yansımasıdır. Bölüm 2.2'de teorik olarak anlatıldığı gibi, bir hücre süspansiyonunun yalıtkanlık sabiti, canlı hücrelerin sağlam hücre zarlarına bağlıdır. Canlı hücrenin zarı, iletken sitoplazma ile iletken hücre dışı besiyeri arasında yalıtkan bir bariyer görevi görür ve bir mikro-kapasitör gibi davranır (Gascoyne ve Vykoukal, 2002). Süspansiyonda milyonlarca canlı hücre olduğu düşünülürse, mikro-kapasitörlerin etkisi

artar ve sistemin toplam enerji depolama kapasitesini artırır. Dolayısıyla dielektrik sabitini artırır. Kontrol grubunun daha yüksek yalıtkanlık sabiti değerine sahip olmasının nedeni budur. Hücre kültürleri hazırlanırken ekimi yapılan hücre miktarının artırılması ile bu etkiler çok daha belirgin incelenebilecektir. Quercetin gibi sitotoksik bir ajan, hücrelerde apoptoz veya nekroz süreçlerini tetiklediğinde, hücre zarının bütünlüğü bozulur. Hücre zarı parçalanır, geçirgen hale gelir ve kapasitör özelliğini kaybeder.

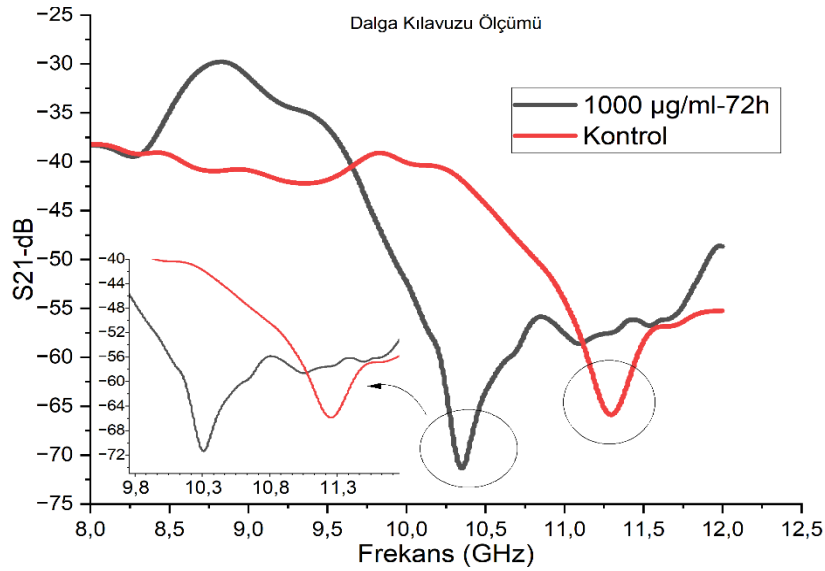
Çizelge 4.3. 1 GHz-20 GHz arasında kontrol ve 1000 µg/ml-72h numunelerinin ϵ' farkları

f (GHz)	kontrol	1000µg/ml-72h	kontrol ile 1000µg/ml-72h farkı
1	83,11	79,17	3,94
2	81,07	77,27	3,80
3	78,60	74,73	3,87
4	76,02	71,95	4,07
5	74,04	69,99	4,05
6	71,87	67,32	4,55
7	69,80	65,26	4,54
8	67,44	63,11	4,33
9	65,05	60,43	4,62
10	62,83	58,39	4,44
11	60,60	56,17	4,43
12	58,32	54,07	4,25
13	56,58	52,31	4,27
14	54,38	50,18	4,20
15	52,31	47,87	4,44
16	50,50	46,04	4,46
17	48,60	44,04	4,56
18	47,12	42,43	4,69
19	45,67	40,86	4,81
20	44,07	39,13	4,94

Sonuç olarak, 72 saatlik inkübasyon sonunda 1000 µg/ml Quercetin uygulanan kültürdeki ϵ' düşüşü, hücre popülasyonunun büyük bir kısmının canlılığını yitirdiğini ve zarlarının parçalandığını gösterir. Süspansiyonun, “canlı kapasitörler” barındırmayan, basit bir iyonik çözelti olan mediumun özelliklerine evrildiğini kanıtlamaktadır. Bu bulgu, tezin temelini oluşturmaktadır. Hücre canlılığındaki azalma, ölçülebilir bir dielektrik imza bırakmaktadır.

4.2. Hücre Canlılığının Mikrodalga İletim Parametreleri Üzerindeki Etkisinin Dalga Kılavuzu Bulguları

Koaksiyel prob ile tespit edilen dielektrik özellik değişimlerinin, mikrodalga iletim hattındaki S-parametreleri üzerinde etkisini doğrulamak amacıyla, Bölüm 3.4'te detaylandırıldığı gibi, 8-12 GHz aralığında çalışan bir dalga kılavuzu ölçüm sistemi kullanılmıştır. Geliştirilecek SRR sensörünün temel alacağı S-parametresi değişimlerini öncül olarak tespit etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Dalga kılavuzu ile yapılan ölçümler sonucunda elde edilen S21 verileri Şekil 4.1'de gösterilmiştir. 1000 µg/ml-72h numunesi 10,3 GHz frekansında -71 dB S21 değerine sahiptir. Kontrol numunesi 11,3 GHz frekansında rezonansa girmiştir. İki örnek arasında yaklaşık 1 GHz kayma gözlemlenmiştir. Burada özellikle hiçbir sitotoksik ajan uygulanmamış yalnızca hücre hattı bulunan kültür ile en yüksek dozda ve maruziyet süresinde sitotoksik madde uygulanmış numune karşılaştırılmıştır. En yoğun canlı hücrenin olduğu örnek ile en az yoğunlukla canlı hücre olan örnekler kıyaslanmıştır ve kayda değer farklılık gözlemlenmiştir. Canlı hücre oranı azaldıkça S21 parametresi daha düşük dB değerlerine ilerlemektedir. Hücre membran yapısı bozulması ile iletkenlik artmaktadır.



Şekil 4.1. Dalga kılavuzu ölçüm sonucu S21 grafiği

Dalga kılavuzu ölçümü, dielektrik özellik değişiminin, S21'de kaymaya yol açtığını göstermektedir. Gözlemlenen 1 GHz frekans kayması ve artan sinyal zayıflaması önceki başlıkta tartışılan biyofiziksel mekanizmalarla uyumludur. Hücre membran yapısının bozulması, iletken sitoplazmanın hücre dışı besiyerine sızmasına neden olur.

Süspansiyonun iyonik iletkenliği ve dolayısıyla dielektrik kayıp faktörü (ϵ'') artar. ϵ'' artması, mikrodalga sinyalinin daha fazla sönümlenmesine yol açar. Gerçekleşen bu olaylar S21 sinyalinin -66 dB'den -71 dB'e düşmesinin sebebidir.

Dalga kılavuzu, kompakt yapıda değildir. Sıvı ölçümler için kusursuz bir tercih değildir. Düzenli ölçüm için kullanılamayacaktır fakat gerçekleştirilen deney, PANC-1 hücrelerindeki sitotoksitenin S-parametreleri aracılığıyla algılanmasının etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir. Daha küçük, düzlemsel, düşük maliyetli ve daha hassas bir yapı olan metamalzeme tabanlı bir SRR sensör ile S parametre değişiminin yakalamanın mümkün ve gerekli olduğunu göstermiştir.

4.3. SRR Biyosensör Tasarımı ve Simülasyon Sonuçları

Önceki bölümlerde, sitotoksiteye uğrayan hücre kültürlerinin hem dielektrik özelliklerinde hem de mikrodalga iletim parametrelerinde belirgin ve ölçülebilir değişimler olduğu kanıtlanmıştır. Buradan elde edilen sonuçlar ile sensör tasarımı gerçekleştirilmiştir. Dielektrik özellik ve iletim parametresi değişimlerini minimum numune hacmiyle ve maksimum hassasiyetle algılamak amacıyla, Bölüm 3.5'te sensör tasarımı gerçekleştirilmiştir. İlgili bölümde bahsedilen optimizasyon kriterlerine dayanan SRR sensörünün tasarım bulguları bu bölümde sunulmaktadır.

Seçilen tasarım, Şekil 3.16(a)'da gösterildiği gibi 50 Ω mikroşerit iletim hattına kuplajlanmış bir SRR yapısına ve bu yapının teorik davranışını açıklayan Şekil 3.16(b)'deki eşdeğer RLC devre modeline dayanmaktadır. Sensörün algılama prensibi, SRR'nin boşluk (gap) bölgesindeki kapasitansın, numunenin dielektrik sabitine bağlı olmasına dayanır. Numunedeki ϵ değişimi, toplam kapasitansı ve ölçülen rezonans frekansını değiştirir.

Antenlerde S11 değerinin -10 dB'den daha düşük olması istenir (Ateş vd., 2019). Rezonatör tabanlı bir sensörde S11 değerinin -10 dB'den kötü olması beklenen bir durumdur. Bu durum, enerjinin sadece yansımadığını veya iletilmediğini, aynı zamanda rezonans anında yapı tarafından soğurulduğunu gösterir. Bu soğurulma, Şekil 3.21'de sunulan güç analizi ile anlaşılmaktadır. Her iki rezonans frekansında sisteme kabul edilen güç maksimumdadır. Yani enerji yapı içinde hapsedilmektedir. Bu alan hapsetme ve enerji soğurma mekanizması, sensörün algılama için gerekli olan yüksek alan yoğunluğunu oluşturduğunun göstergesidir.

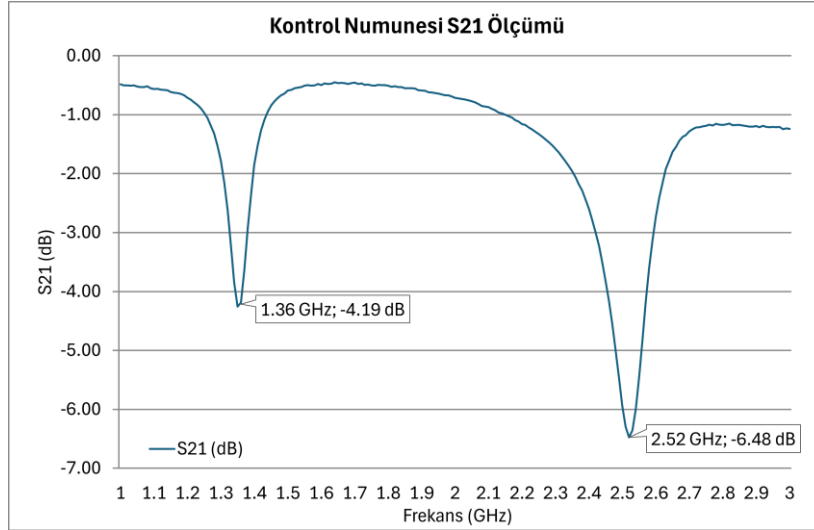
Sensörün çift modlu yapısı, algılama performansı için bir avantajdır. Birinci rezonans frekansı 1,4 GHz incelendiğinde, port geriliminin düştüğü ve akımın yükseldiği gözlemlenir. Elektrik alan dağılımı SRR'nin gap bölgesinde ($\sim 3,6$ V/mm) yoğunlaşmıştır. Bu durum yapının kapasitif bir rezonans modunda olduğunu ve bu bölgenin numune dielektrik sabitine karşı en hassas bölge olacağını gösterir. İkinci rezonans frekansı 2,5 GHz incelendiğinde port geriliminin yükseldiği ve elektrik alan dağılımının sadece yarıka değil, SRR kolları ile iletim hattı arasında da (~ 4 V/mm) yayıldığı görülmektedir. Bu durum, yapının endüktif veya daha yüksek mertebeden bir rezonans modunda çalıştığını göstermektedir.

Çift modlu yapı, sensöre iki farklı algılama mekanizması sağlar. Birincil algılama modu (1,4 GHz), hücrelerin dielektrik değişimlerinin doğrudan etkileyeceği kapasitif yarık bölgesine odaklanırken; ikinci mod (2,5 GHz), numunenin hem dielektrik hem de iletkenlik özelliklerine yanıt verebilecek etkileşimi gösterir. Ölçümlerin doğruluğunu ve tekrarlanabilirliğini artırmak için çapraz kontrol imkanı tanıyan avantajlı bir durumdur.

4.4. Deneysel SRR Biyosensör Ölçüm Sonuçları

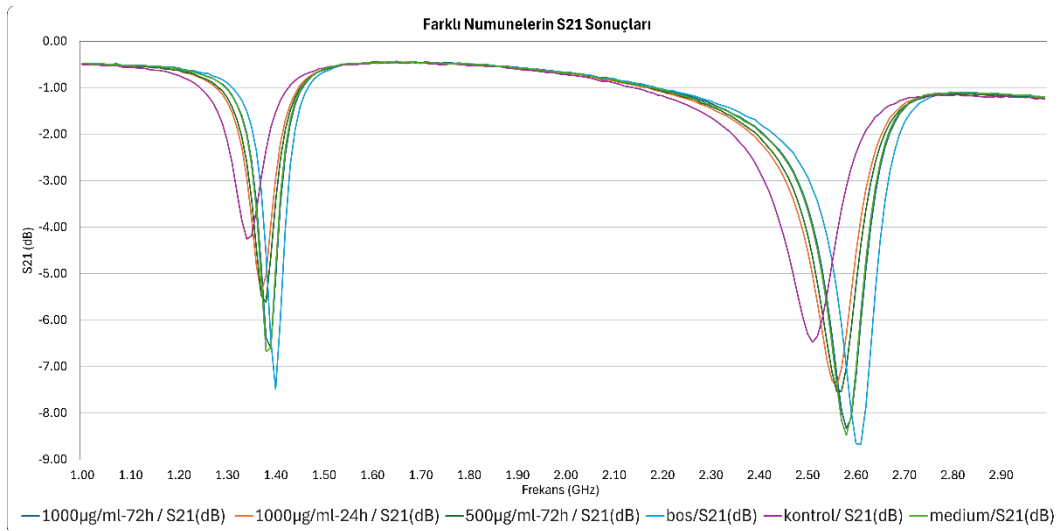
Elde edilen dielektrik veriler kullanılarak tasarlanan ve üretilen biyosensörün PANC-1 ve BxPC-3 hücre hatları kullanılarak ölçümleri yapılmıştır. Yapıyı kontrol etmek için önce boş sensör ölçümü yapılmıştır ve simülasyon ile uyumu kontrol edilmiştir. Bölüm 3.7'de anlatıldığı şekilde iki farklı VNA ile SRR sensörün PANC-1 ve BxPC-3 hücre hatlarına 5 farklı doz ve 3 farklı sürede sitotoksik etkiye maruz bırakılması ile hazırlanan numunelerin detaylı ölçüm sonuçları verilmiştir. Deneysel sensör ölçümlerinin iki farklı VNA ve iki farklı pankreas kanseri hücre hattı kullanılarak tekrarlanması, elde edilen bulguların cihazdan veya hücre hattından bağımsız, sağlam ve tekrarlanabilir bir fiziksel prensibe dayandığını teyit etmektedir.

Keysight N5234A VNA kullanılarak ve PANC-1 hücre hatlı numuneler ile yapılan deneylere Quercetin uygulanmamış yalnızca hücre hattı içeren kontrol numunesinin ölçümü ile başlanmıştır ve sonuçları Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Kontrol numunesi S21 sonuç grafiği

Farklı numuneler arasında canlı hücre yoğunluğunun değişimi ile S21 iletim katsayısı parametresinin değişimini gösterebilmek için en yüksek hücre canlılığının bulunduğu kontrol numunesi ile en düşük hücre canlılığının olacağı yüksek sitotoksositeye sahip 1000 $\mu\text{g/ml}$ -72h, 1000 $\mu\text{g/ml}$ -24h ve 500 $\mu\text{g/ml}$ -72h numunelerinin bir arada bulunduğu S21 sonuç grafiği Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Bu grafiğe boş yani numunenin bulunmadığı sensör sonucu ve yalnızca besiyeri içeren medium isimli numunenin sonuçları da eklenmiştir. Sensörün, besiyerinin, en düşük ve en yüksek canlılığa sahip kültürlerin sonuçları görsel olarak paylaşılmak istenmiştir.



Şekil 4.3. Farklı numunelerin SRR biyosensör ile ölçümünden S21 sonuçları

Elde edilen veriler ayrıca Çizelge 4.4'te belirtilmiştir. Çizelgede numunelerin iki farklı rezonans frekansları ve frekans noktasındaki dB değerleri verilmiştir. Görüldüğü üzere kültürdeki canlı hücre yoğunluğu arttıkça rezonans frekans değeri düşerken S21 parametresi matematiksel olarak yükselmektedir. Hem frekans kayması hem de dB değer değişimi viability tespitini gerçekleştirebildiğimizi göstermektedir. Çizelgede fr_1 değerleri GHz mertebesinde numunelerin ilk rezonans frekansını, fr_2 değerleri ise GHz mertebesinde ikinci rezonans frekansını ifade etmektedir. $S21_1$ ifadesi dB cinsinden ilk rezonans frekansındaki S21 değerini, $S21_2$ ifadesi ise dB cinsinden ikinci rezonans frekansındaki S21 değerini belirtmektedir.

Çizelge 4.4. Çeşitli numunelerin SRR sensör ile ölçüm sonucu elde edilen S21 ve frekans değerleri

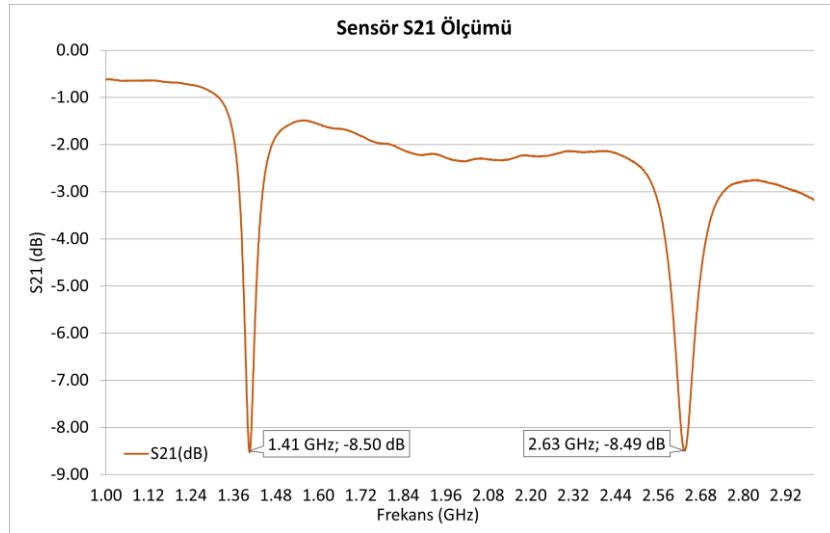
Numune	fr_1 (GHz)	$S21_1$ (dB)	fr_2 (GHz)	$S21_2$ (dB)
Kontrol	1,36	-4,19	2,52	-6,48
1000 μ g/ml-24h	1,38	-5,42	2,57	-7,43
500 μ g/ml-72h	1,39	-5,62	2,58	-7,53
1000 μ g/ml-72h	1,40	-6,60	2,59	-8,34
Medium	1,39	-6,67	2,59	-8,48
Boş Sensör	1,41	-7,49	2,62	-8,68

Her bir numunenin rezonans frekansı (fr), S21 eğrisinin minimum olduğu (maksimum iletim kaybı) frekans noktası olarak belirlenmiştir. Frekans kayması (Δfr), her bir numunenin rezonans frekansının, kontrol grubunun rezonans frekansından çıkarılmasıyla hesaplanmıştır ve MHz mertebesinde Çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Rezonans frekansındaki S21 iletim katsayısının genliğindeki değişim ($\Delta S21$) numunenin rezonans genliğinin, kontrol grubunun rezonans genliğinden çıkarılmasıyla hesaplanmıştır ve dB mertebesinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Numunelerin kontrol numunesine göre frekans kaymaları ve S21 farkları

Numune	Δfr_1 (MHz)	$\Delta S21_1$ (dB)	Δfr_2 (MHz)	$\Delta S21_2$ (dB)
Kontrol	0	0	0	0
1000 μ g/ml-24h	20	-1,23	50	-0,95
500 μ g/ml-72h	30	-1,43	60	-1,05
1000 μ g/ml-72h	50	-2,41	70	-1,86
Medium	30	-2,48	70	-2
Boş Sensör	50	-3,3	100	-2,2

R&S ZVA50 VNA ile yapılan test sürecinde elde edilen sonuçlar diğer sonuçlara benzerdir. Bu sayede farklı zamanlarda ve farklı VNA modelleri ile yapılan deneyler sensörün tutarlılığını doğrulamıştır. Ölçümün ilk adımı olarak yine boş sensör ölçülerek simülasyon ile karşılaştırılması yapılmıştır ve sonuçlar tutarlıdır. Bir önceki ölçüm ile çok yakın değerler elde edilmiştir. 1,4 GHz frekansında dip noktası biraz daha derin elde edilmiştir bu durum ölçümün yapıldığı VNA'nın daha hassas olmasından ve bu sensörün üretim aşamasında bakır kaldırma işleminin lazer yöntemi ile yapılmasından kaynaklanabilir. Ölçüm sonucu Şekil 4.4'te verilmiştir. Numune haznesi boş sensörün ölçümü, simülasyonla mükemmel bir uyum göstermiştir. İlk rezonans modu $f_{r1} = 1,41$ GHz (-8,50 dB) ve ikinci rezonans modu $f_{r2} = 2,63$ GHz (-8,49 dB) olarak ölçülmüştür. Simülasyonda elde edilen sonuçlara çok yakın değerler ölçülmüştür. Tasarım aşamasında istenen frekans değerleri elde edilmiştir.

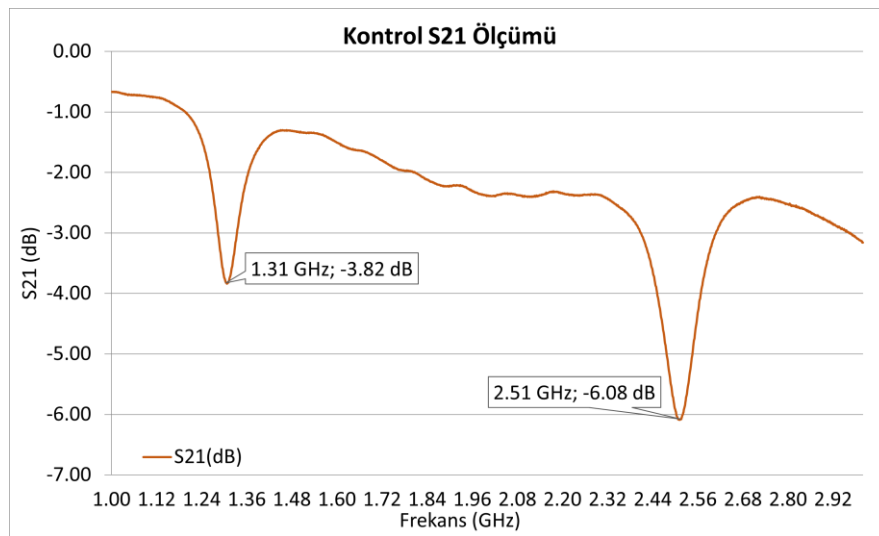


Şekil 4.4. İkinci ölçüm boş sensör S21 sonucu

Geliştirilen sensörün performans karakterizasyonu kapsamında, boş sensör ölçümleri üzerinden Q-faktörü hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Birinci rezonans modu için S21 değerinin 3 dB'lik bant genişliği referans alınarak kesim frekansları tespit edilmiştir. Bant genişliği sınırları yaklaşık 1,39 GHz ve 1,42 GHz olarak belirlenmiş ve Q faktörü 47 olarak hesaplanmıştır. Q değerinin sınırlı kalmasındaki temel etken, tasarımda kullanılan FR4 alttaş malzemesinin mikrodalga frekanslarındaki yüksek dielektrik kaybıdır. Biyosensör tasarımında Q faktörü optimizasyonu kritik bir unsurdur. Yüksek sönümlenme karakteristiğine sahip sıvı numunelerin kullanılması nedeniyle, aşırı yüksek Q faktörüne sahip rezonatörler yüklemeye altında rezonansın kaybolması riski

taşımaktadır. Çok düşük Q değerleri ise frekans kayması hassasiyetini azaltarak hücre canlılık tespitini zorlaştırmaktadır. Benzer hesaplama yöntemi ikinci rezonans modu için uygulandığında Q faktörü yaklaşık 38 olarak bulunmuştur.

Besiyerine sadece BxPC-3 hücre hattı ekimi yapılarak kültüre edilen ve herhangi bir sitotoksositeye maruz bırakılmayan kontrol hücre hattı ölçümleri yapılarak en yüksek yoğunluklu canlı hücre ortamının sonuçlarına ulaşılmıştır ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Elde edilen veriler sensörün başarılı olduğunu gösteren değerlerdir. İlk rezonans frekansı 1,31 GHz değerine düşerken S21 değeri yükselerek -3,82 dB olmuştur. İkinci rezonans frekansı 2,51 GHz değerine çekilirken iletim katsayısı -6,08 dB değerindedir.

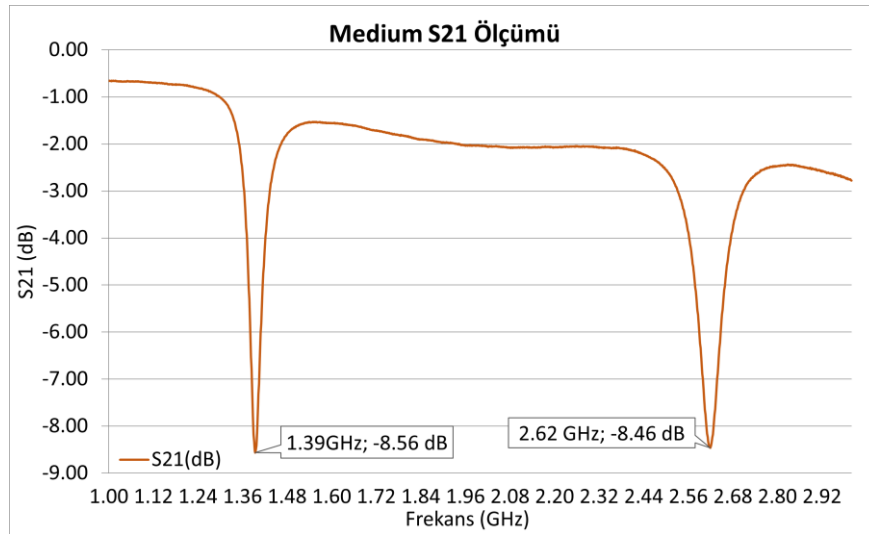


Şekil 4.5. İkinci ölçüm kontrol numunesi S21 sonucu

Geliştirilen biyosensörün dielektrik değişimlere karşı hassasiyetini belirlemek amacıyla, dielektrik sabiti en düşük olan ortam (hava/boş sensör) ile dielektrik sabiti en yüksek olan ortam (kontrol numunesi) arasında değerlendirme yapılmıştır. Boş sensör ölçümlerinde algılama bölgesinde hava $\epsilon' = 1$ bulunduğu durumda birinci rezonans frekansı 1,41 GHz olarak ölçülmüştür. En yüksek canlı hücre yoğunluğuna sahip kontrol numunesinin dielektrik sabiti koaksiyel prob ölçümlerine göre 1 GHz frekansında yaklaşık 83 olarak tespit edilmiştir. Kontrol numunesi sensöre uygulandığında rezonans frekansında yaklaşık 100 MHz'lik bir kayma gözlemlenmiştir. Sensörün numunenin dielektrik sabitindeki toplam değişime verdiği frekans tepkisi üzerinden hassasiyeti $1,22 \text{ MHz}/\epsilon'$ olarak hesaplanmıştır. Bu hassasiyet değeri sensörün dielektrik özellikleri yüksek olan biyolojik sıvıların varlığını ve değişimini ayırt edebilecek yeterlilikte olduğunu doğrulamaktadır.

Kontrol numunesi ile 1000 $\mu\text{g/ml}$ numunesi arasında %1 canlılık değişiminin kaç MHz frekans kaymasına denk geldiği de analiz edilmiştir. Bu hesaplamada en yüksek canlılık ile en düşük canlılık durumları kıyaslanmıştır. %100 canlılığa sahip olduğu kabul edilen kontrol grubu referans noktası olarak alınmıştır. 1000 $\mu\text{g/ml}$ numunesinin birinci rezonans frekansının kontrol numunesine göre 86 MHz kaydığı görülmektedir ve MTT sonuçlarına göre canlılık oranı %37,66'dır. Hassasiyet oranı 1,38 MHz/%canlılık olarak hesaplanmıştır. Sensör, hücre kültüründeki her %1'lik canlılık kaybına karşılık ortalama 1,38 MHz frekans kayması tepkisi vermektedir.

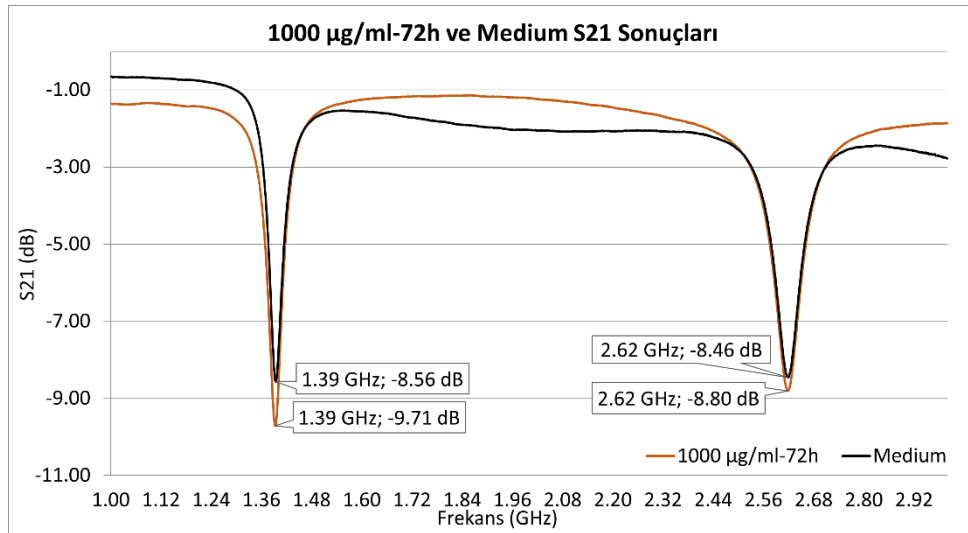
Yalnızca besiyerini içeren medium sıvısının sensör numune bölmesine damlatılması ile yapılan ölçümlerde frekans boş sensöre göre sola kayma göstermiştir. Bu beklenen durumdur ve içerisinde hiç hücre hattı olmayan ortamın dahi algılanabildiğini göstermiştir. İlk modda 1,39 GHz'de -8,56 dB, ikinci modda 2,62 GHz'de -8,46 dB ölçülmüştür. VNA dahili hafızasına kaydedilen veriler ile oluşturulan medium S21 sonuç grafiği Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. İkinci ölçüm medium S21 sonucu

Bu üç temel ölçüm, sensörün çalışma prensibini kanıtlamaktadır. Boş sensöre (düşük ϵ') göre, medium (yüksek ϵ') yüklenmesi frekansı sola kaydırır. Mediuma göre, kontrol yüklenmesi frekansı daha da sola kaydırır. VNA koaksiyel prob ile yapılan ölçümleri doğrularak, canlı hücrelerin (sağlam zarlarıyla birer mikro-kapasitör gibi davranarak) süspansiyonun toplam efektif dielektrik sabitini (ϵ') hücresiz besiyerine göre artırdığı ve bu artışın sensör tarafından frekans kayması olarak algılandığı net bir şekilde görülmektedir.

Hazırlanan kültürler arasında en yüksek doz 1000 µg/ml ve en uzun inkübasyon süresi 72 saattir. Bu kadar uzun süre yüksek doza maruz kalan pankreas kanser hücrelerinin büyük ölçüde ölmesi beklenir yani canlı hücre oranı düşmüş olur ve besiyerinde çoğunlukla ölü hücrelerin parçaları bulunur. Her canlı hücre membran yapısı ve içerisinde sıvı tutması sebebiyle sinyaller üzerinde yansıtıcı ve emici etkiye sahiptir. Besiyeri içerisine dağılmış ölü hücrelerin frekans ve iletim katsayısı, yalnızca besiyeri olan medium numunesine benzerlik göstermektedir. Medium ortamında hücreler tarafından tüketilmemiş besinlerin bulunması ve hiç hücre hattı bulunmamasından kaynaklı sinyaller üst üste binmemektedir. En düşük canlılık oranı beklenen 1000 µg/ml-72h numunesi ile medium numunesinin bir arada verilmiş sonuç grafiği Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

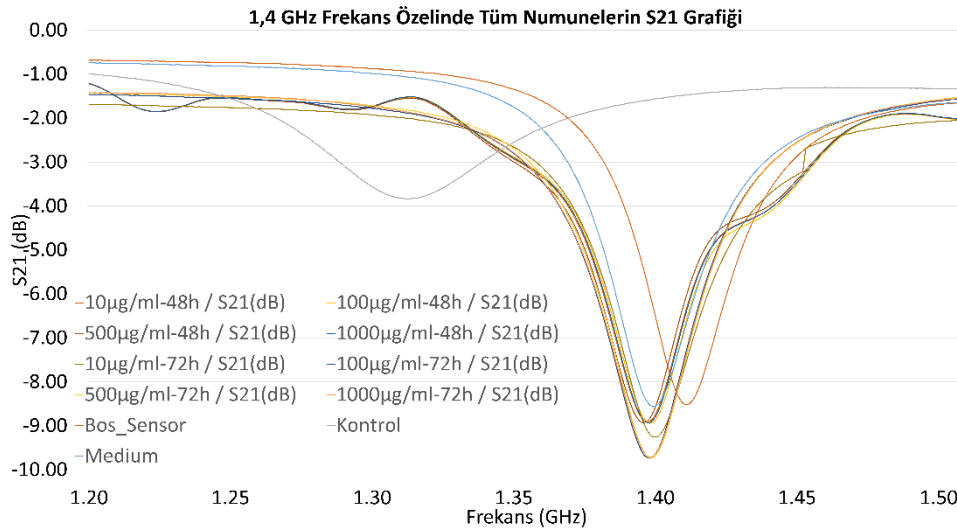


Şekil 4.7. İkinci ölçüm 1000 µg/ml-72h ile medium S21 kıyaslaması

Şekil 4.7’deki grafikte en önemli bulgu, her iki numunenin her iki rezonans anında da frekanslarının birebir aynı olmasıdır. Kontrol numunesinde canlı hücrelerin rezonans frekansını, sağlam zar kapasitansları nedeniyle mediuma göre daha sola (düşük frekansa) çektiği görülmüştür. Bu grafikte, 72 saat boyunca 1000 µg/ml Quercetin’e maruz kalan hücrelerin (maksimum ölüm) rezonans frekansının, medium frekansıyla çakışmaktadır. Bu çakışma, o kültürdeki canlı hücre kapasitörlerinin tamamen ortadan kalktığını bilimsel olarak kanıtlar. 72 saatlik yoğun maruziyet, hücrelerin zar bütünlüğünü yok etmiş, sistemin dielektrik sabiti azalmış ve sensör artık canlı hücre değil, dielektrik özelliği açısından neredeyse hücresiz medium ile aynı olan bir sıvıyı ölçmeye başlamıştır. Bu, sensörümüzün en düşük canlılık için verdiği sinyaldir ve bu sinyalin mantıksal olarak

temel çizgiye dönmesi, yöntemin doğruluğunu göstermektedir. Frekanslar çakışsa bile iki moda da küçük bir genlik farkı gözlemlenmektedir. Bu durum, 1000 $\mu\text{g/ml}$ -72h kültürünün, taze mediuma göre daha az iletken hale geldiğini gösterir; bunun biyolojik nedeni besin tüketimidir. Medium, iyon ve besin açısından zengin bir sıvıdır bu nedenle yüksek iletkenliğe sahiptir. 1000 $\mu\text{g/ml}$ -72h kültüründeki hücreler, kültür süresi boyunca besiyerindeki glikozu, tuzları ve amino asitleri tüketmiştir, daha az iyonik hale gelmiştir. Bu grafik bile tek başına, geliştirilen sensörün sitotoksisiteyi algılama prensibini çok iyi bir şekilde özetlemektedir.

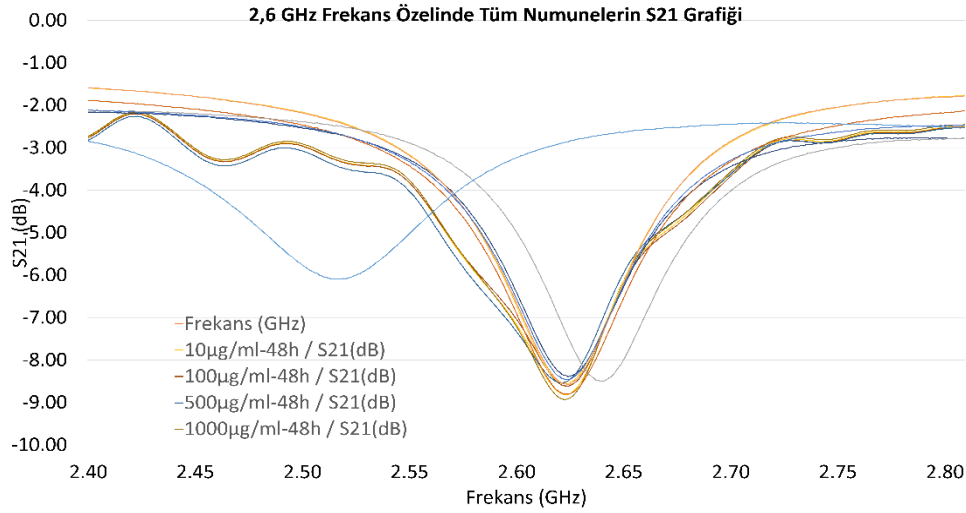
Aynı hassasiyetle ve özenle tüm hücre kültürlerinin ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçların grafikleri görünürlüğün kolaylaşması için ikiye bölünerek paylaşılmıştır. Şekil 4.8’de 1,4 rezonans frekansı çevresinde 48h ve 72h numunelerin S21 parametresi grafiği verilmiştir. Önceki grafiklerde özel olarak paylaşılan örneklerde bu grafik içerisinde bulunmaktadır. Sitotoksisite düştükçe yani hücre canlılığı arttıkça frekans düşmekte ve rezonans noktası sola doğru kaymaktadır. Bununla birlikte dB mertebesinde değerimiz matematiksel olarak yükselmektedir. Bu grafikler toplu sonuçların ve değişimin görsel olarak vurgulanması için paylaşılmıştır. Değerler detayları ile Çizelge 4.6’da paylaşılmıştır.



Şekil 4.8. 48h ve 72h numunelerin S21 sonuçlarının 1,4 GHz rezonans çevresindeki gösterimi

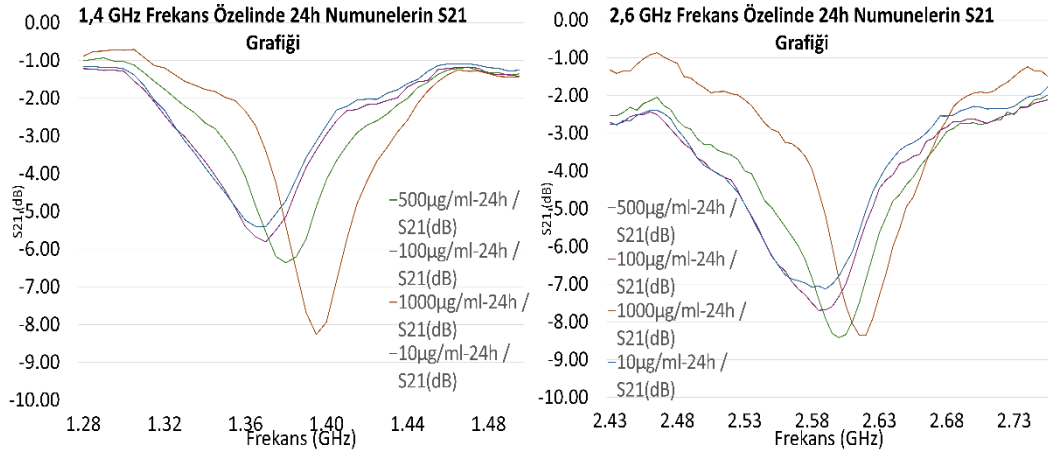
Şekil 4.9’da 2,6 rezonans frekansı çevresinde 48h ve 72h numunelerin S21 parametresi grafiği verilmiştir. Sitotoksisite değiştikçe iletim katsayısının değişimi bu frekans değerinde daha belirgindir. Tezin ana hipotezinin testi, farklı doz ve sürelerde Quercetin uygulanmış hücrelerin sensör yanıtının incelenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Bu

grafikler bulguları net olarak göstermektedir. En soldaki eğri, en düşük fr, en yüksek canlılığa sahip kontrol numunesine aittir. En sağdaki eğri, en yüksek fr, canlılığın en düşük olduğu 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -72h numunesine aittir. Aralardaki diğer gruplar bu iki uç nokta arasında, artan doz ve süreye bağlı olarak sistematik bir şekilde soldan sağa doğru kaymıştır.



Şekil 4.9. 48h ve 72h numunelerin S21 sonuçlarının 2,6 GHz rezonans çevresindeki gösterimi

Görsellerde çok fazla verinin okunurluğu zorlaştırmaması amacıyla 24 saat inkübasyon süresine maruz bırakılan numunelerin grafikleri Şekil 4.10'da ayrıca verilmiştir. 24 saat özelinde incelendiği zaman yine beklendiği gibi 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ile 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ uç noktalarda yer almaktadır. 24 saatlik eşit maruziyet süresinde 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en yüksek sitotoksositeye sahip olması sebebiyle canlı hücre yoğunluğu azdır ve grafiğin en sağında yer almaktadır.



Şekil 4.10. 24h numunelerin S21 sonuçlarının 1,4 ve 2,6 GHz rezonans çevresindeki gösterimi

SRR temelli biyosensör ile gerçekleştirilen ölçümlerden elde edilen her iki rezonans frekansı için 10 µg/ml – 24h, 100 µg/ml – 24h, 500 µg/ml – 24h, 1000 µg/ml – 24h, 10 µg/ml – 48h, 100 µg/ml – 48h, 500 µg/ml – 48h, 1000 µg/ml – 48h, 10 µg/ml – 72h, 100 µg/ml – 72h, 500 µg/ml – 72h, 1000 µg/ml – 72h doz ve inkübasyon sürelerinde 12 numune, sitotoksik madde uygulanmamış, yalnızca hücre hattı kültüre edilmiş kontrol numunesi, medium ortamı olarak isimlendirilen besiyeri ile boş sensörün S21 değerleri Çizelge 4.6’da verilmiştir. Çizelgede fr_1 değerleri GHz mertebesinden numunelerin ilk rezonans frekansını, fr_2 değerleri ise GHz mertebesinden ikinci rezonans frekansını ifade etmektedir. $S21_1$ ifadesi dB cinsinden ilk rezonans frekansındaki S21 değerini, $S21_2$ ifadesi ise dB cinsinden ikinci rezonans frekansındaki S21 değerini belirtmektedir.

Çizelge 4.6. SRR biyosensör ölçümleri ile elde edilen sonuçlar

Numune	fr_1 (GHz)	$S21_1$ (dB)	fr_2 (GHz)	$S21_2$ (dB)
10µg/ml-24h	1,365	-5,407	2,585	-7,128
100µg/ml-24h	1,365	-5,804	2,580	-7,694
500µg/ml-24h	1,375	-6,360	2,595	-8,415
1000µg/ml-24h	1,390	-8,264	2,610	-8,349
10µg/ml-48h	1,392	-8,911	2,619	-8,251
100µg/ml-48h	1,393	-8,943	2,620	-8,612
500µg/ml-48h	1,391	-8,933	2,617	-8,529
1000µg/ml-48h	1,393	-8,931	2,618	-8,928
10µg/ml-72h	1,395	-9,259	2,620	-8,392
100µg/ml-72h	1,393	-9,740	2,618	-8,563
500µg/ml-72h	1,393	-9,736	2,620	-8,575
1000µg/ml-72h	1,393	-9,709	2,620	-8,804
Kontrol	1,307	-3,839	2,513	-6,089
Medium	1,394	-8,565	2,620	-8,460
Boş Sensör	1,399	-7,569	2,635	-8,491

Her bir numunenin rezonans frekansı (fr), S21 eğrisinin minimum olduğu (maksimum iletim kaybı) frekans noktası olarak belirlenmiştir. Frekans kayması (Δfr), her bir numunenin rezonans frekansının, kontrol grubunun rezonans frekansından çıkarılmasıyla hesaplanmıştır ve MHz mertebesinde Çizelge 4.7’de gösterilmiştir. Rezonans frekansındaki S21 iletim katsayısının genliğindeki değişim ($\Delta S21$) numunenin rezonans genliğinin, kontrol grubunun rezonans genliğinden çıkarılmasıyla hesaplanmıştır ve dB mertebesinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Numunelerin kontrol numunesine göre frekans ve S21 farkları

Numune	Δf_{r1} (MHz)	$\Delta S21_1$ (dB)	Δf_{r2} (MHz)	$\Delta S21_2$ (dB)
10 μ g/ml-24h	58	-1,568	72	-1,039
100 μ g/ml-24h	58	-1,965	67	-1,605
500 μ g/ml-24h	68	-2,521	82	-2,326
1000 μ g/ml-24h	83	-4,425	97	-2,260
10 μ g/ml-48h	85	-5,072	106	-2,162
100 μ g/ml-48h	86	-5,104	107	-2,523
500 μ g/ml-48h	84	-5,094	104	-2,440
1000 μ g/ml-48h	86	-5,092	105	-2,839
10 μ g/ml-72h	88	-5,42	107	-2,303
100 μ g/ml-72h	86	-5,901	105	-2,474
500 μ g/ml-72h	86	-5,897	107	-2,486
1000 μ g/ml-72h	86	-5,87	107	-2,715
Kontrol	0	0	0	0
Medium	87	-4,726	107	-2,371
Boş Sensör	92	-3,73	122	-2,402

Deneysel SRR ölçüm sonuçları, tezin ana hipotezini güçlü bir şekilde doğrulamakta, frekans kayması ve genlik azalması ile açıklanmaktadır.

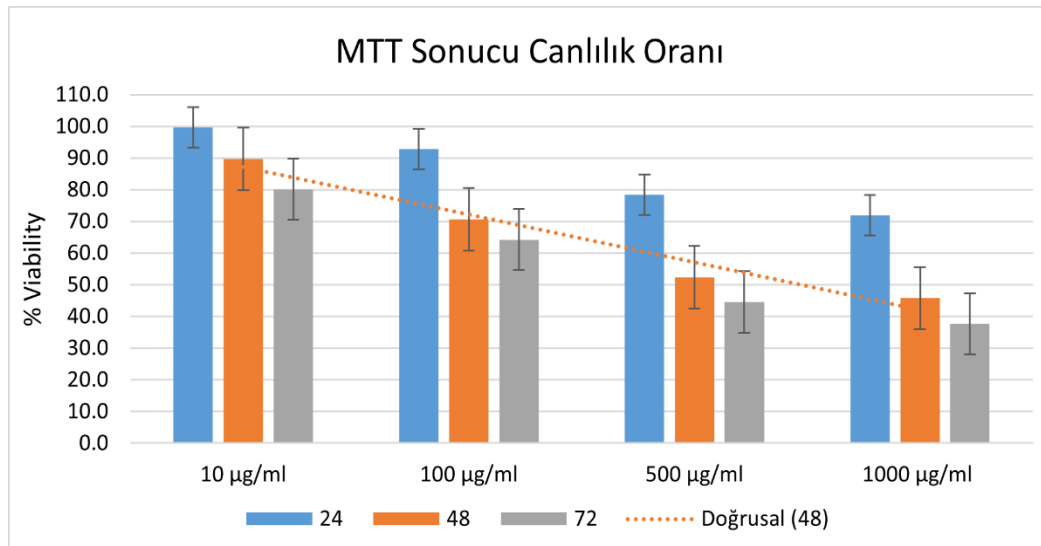
Frekans Kayması (Δf_r): Bölüm 4.1’de kanıtlandığı gibi, kontrol grubundaki canlı hücreler, sağlam zarlarıyla birer kapasitör görevi görerek sistemin toplam kapasitansını artırır ve f_r ’yi en düşük seviyeye (1,307 GHz) çeker. Quercetin dozu ve süresi arttıkça, hücreler apoptoz/nekroza uğrar, hücre zarı bütünlüğü bozulur. Kapasitif etki kaybolur. Sistem kapasitansı azalması rezonans frekansının ($f_r = 1/(2\pi\sqrt{LC})$) yükselmesine (sağa kaymasına) neden olur. Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10’da rahatlıkla gözlemlenen soldan sağa sistematik kayma, canlı hücre kapasitif etkisinin doza bağlı olarak ortadan kalkışının görselidir. 1000 μ g/ml-72h numunesinin frekansının, hücresiz medium frekansına eşitlenmesi, o kültürde artık canlı hücre kalmadığının, yani yüksek etkili sitotoksitenin gerçekleştiğinin güçlü bir kanıtıdır.

Genlik Azalması ($|\Delta S21|$): Kontrol grubunda, iyonlar canlı hücrelerin içinde hapsolmuştür. Süspansiyonun genel iletkenliği nispeten düşüktür. Bu, daha az sinyal kaybı ve daha yüksek S21 anlamına gelir. Hücreler öldükçe, içerdikleri iletken iyonları çevreleyen besiyerine salarlar. Bu durum, süspansiyonun iletkenliğini ve dielektrik kaybını (ϵ'') artırır. İletkenliği artan ortam, sensörün rezonans çukuruna giren mikrodalga enerjisini daha fazla soğurur ve S21 genliğinin düşmesine (daha negatif/derin olmasına) yol açar.

Geliştirilen SRR biyosensör, hücre canlılığını iki farklı ve birbirini doğrulayan parametre üzerinden (frekans kayması Δf_r ve genlik değişimi $\Delta|S_{21}|$) ölçme yeteneğini kanıtlamıştır. Bulgular, farklı VNA cihazları ve hücre hatları (PANC-1 ve BxPC-3) ile tekrarlanarak sistemin sağlamlığı teyit edilmiştir.

4.5. MTT Hücre Canlılığı Analizi ve Sensör Verileri ile Karşılaştırılması

Geliştirilen SRR biyosensörünün ve koaksiyel prob ölçümlerinin yanıtını biyolojik olarak doğrulamak amacıyla, sensör ölçümleriyle paralel olarak hücre kültürlerine standart MTT analizi uygulanmıştır. Bu analiz, Quercetin'in sitotoksik etkisine bağlı olarak metabolik açıdan aktif hücre popülasyonunun yüzdesini belirleyen altın standart referans veriyi sağlar. MTT sonucu elde edilen verilerin doz ve süreye bağlı % canlılık (viability) değerleri sütun grafiği halinde Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. MTT sonucu hesaplanan canlılık (viability) dağılımı

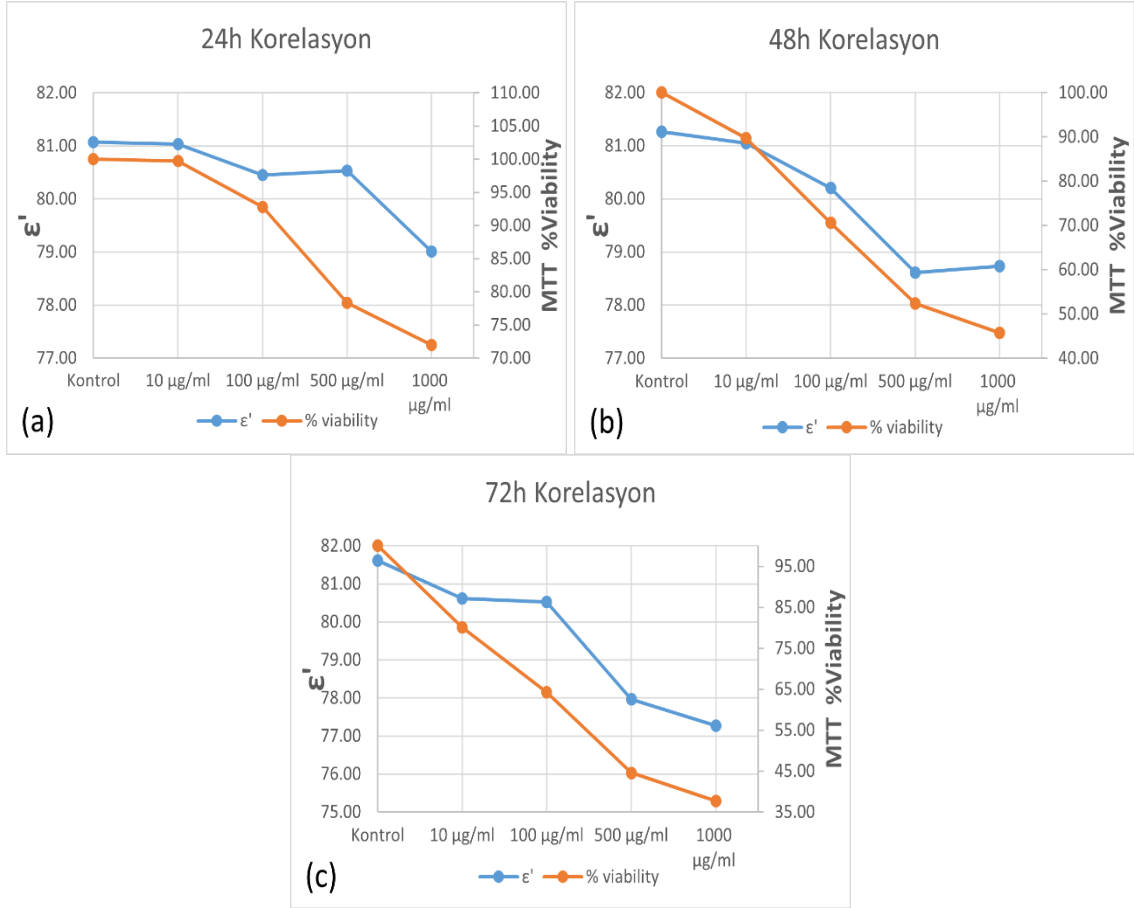
MTT sonuçları Quercetin'in hücreler üzerinde belirgin, doza ve zamana bağlı bir sitotoksik etki gösterdiğini kanıtlamaktadır. 24 saatlik inkübasyon sonunda sitotoksik etki nispeten ılımlıdır. Canlılık, kontrol grubuna kıyasla en yüksek doz olan 1000 µg/ml'de dahi sadece ~%72 seviyesine düşmüştür. İnkübasyon süresi 48 saate çıktığında, Quercetin'in etkisi dramatik olarak artmaktadır. Canlılık, 100 µg/ml'de ~%70'e, 500 µg/ml'de ~%52'ye ve 1000 µg/ml'de ~%46'ya gerilemiştir. En güçlü sitotoksik etki 72 saatlik inkübasyon sonunda gözlenmiştir. 1000 µg/ml dozu, hücre popülasyonunun büyük kısmını metabolik olarak inaktif hale getirmiş ve canlılığı ~%37 seviyesine düşürmüştür.

MTT canlılık analizi 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir, ortalama değerlere göre hesaplanan yüzde canlılık oranları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. MTT sonucu hesaplanan canlılık (viability) yüzdeleri

	10µg/ml	100µg/ml	500µg/ml	1000µg/ml
24h	99,70	92,77	78,32	71,97
48h	89,74	70,59	52,38	45,76
72h	80,12	64,20	44,56	37,66

Şekil 4.12’de PANC-1 hücrelerinin 24 saat, 48 saat ve 72 saat boyunca Quercetin'in farklı dozlarına (0-1000 µg/ml) maruz kalması sonucu elde edilen MTT % canlılık ve dielektrik sabiti korelasyon grafikleri verilmiştir. Pearson korelasyon kullanılarak hesaplanmıştır. 3 tekrarlama ile elde edilen MTT testi sonucu absorbans değeri (OD) ortalaması alınmıştır. Sitotoksik ajana maruz kalan numunenin OD verisinin, kontrol numunesinin OD verisine bölünmesi canlılık verisi yüzdeler olarak hesaplanmıştır. Koaksiyel prob yöntemi ile ölçülen dielektrik özelliklerin canlılık ile olan ilişkisini incelemek amacıyla korelasyon hesaplanmıştır. Dielektrik veriler olarak sensörümüzün çalışma frekans aralığı olan 1-3 GHz bandına uygun olması için orta nokta 2 GHz verileri baz alınmıştır. 24h inkübasyon süresindeki kültürlerin korelasyonu sonucu Pearson Korelasyon Katsayısı (r) 0,857 bulunmuştur. 48h kültürlerinin sonucu r = 0,978, 72h maruziyet sonrası r = 0,950 olarak elde edilmiştir.



Şekil 4.12. PANC-1 hücrelerinin (a) 24 saat, (b) 48 saat ve (c) 72 saat boyunca Quercetin'in farklı dozlarına (0-1000 µg/ml) maruz kalması sonucu elde edilen MTT % canlılık ve dielektrik sabiti korelasyon grafikleri

Tezin temelindeki fiziksel prensibi doğrulamak için, Şekil 4.12'de koaksiyel prob ile ölçülen dielektrik sabit (ϵ' , mavi eğri) değerleri ile MTT % canlılık (turuncu eğri) değerleri karşılaştırılmıştır. Üç zaman noktası incelendiğinde, iki eğri arasında dikkat çekici bir görsel paralellik gözlenmektedir. MTT % canlılık azaldıkça (yani hücreler öldükçe), dielektrik sabit değeri de sistematik olarak azalmıştır. Hesaplanan korelasyon sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. MTT canlılık testi ile dielektrik ölçüm korelasyon sonuçları

İnkübasyon Süresi	Pearson Korelasyon Katsayısı (r)	İstatistiksel İlişki
24h	0,857	Güçlü pozitif korelasyon
48h	0,978	Çok güçlü pozitif korelasyon
72h	0,950	Çok güçlü pozitif korelasyon

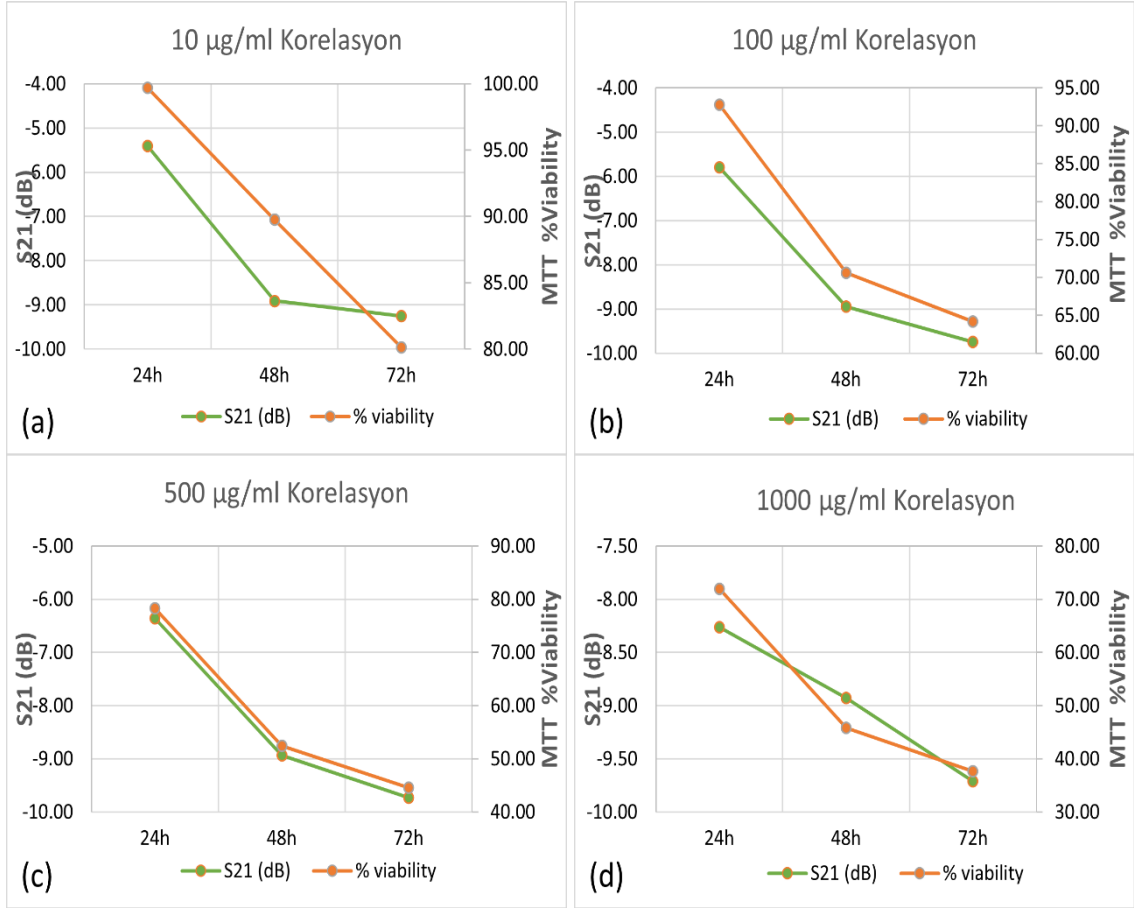
r değerlerinin 1'e bu kadar yakın olması, biyolojik canlılık ile dielektrik sabit arasında çok güçlü, pozitif ve doğrusal bir ilişki olduğunu net şekilde kanıtlamaktadır. Korelasyon katsayısının +1 olması mükemmel pozitif doğrusal ilişkiyi gösterir; bir değişkenin değerleri arttıkça, diğer değişkenin değerleri de kesin bir doğrusal kurala göre artıyor ise aralarında doğru bir ilişki vardır (Ratner, 2009).

Bu bulgu, önceki bölümde ifade edilen biyofiziksel teoriyi deneysel olarak doğrulamaktadır. Hücre popülasyonu canlıyken sağlam zar sayısı fazladır, bu da yüksek bir dielektrik sabite yol açar. Hücreler öldükçe, zar bütünlüğü bozulur, kapasitörler devreden çıkar, bu da dielektrik sabitin düşmesine neden olur. 24 saatlik r katsayısının diğerlerine göre bir miktar düşük olması, MTT grafiğinde de görüldüğü gibi, 24 saatte sitotoksik etkinin henüz çok az olmasıyla ve bu düşük değişim aralığındaki ölçüm hassasiyetiyle açıklanabilir.

Bu sonuçlar, dielektrik sabitin, hücre canlılığı için geçerli ve yüksek doğruluklu bir biyofiziksel belirteç olduğunu kanıtlamaktadır.

Tez çalışmasının amacı olan hücre canlılığının takip edilebilmesinde kullanılacak iletim hattı tabanlı biyosensör geliştirilmesinin etkinliği bu analiz ile kesinleştirilmiştir. Simülasyon ortamında sensörün etkinliği gösterilmiştir, deneysel çalışmalar ile iki farklı hücre hattına dört farklı doz ve üç farklı sürede sitotoksik madde uygulanan kültürlerin ölçümleri yapılmıştır. Geleneksel ve en yaygın yöntem olarak kabul edilen MTT testi ile aynı anda yapılan ölçüm sonuçlarının sensör ile elde edilen iletim katsayıları arasında korelasyonunda neredeyse tamamen uyum gözlemlenmiştir.

Analiz, sensörün iki rezonans frekans bölgesi içinde yapılmıştır. Sensörün birincil algılama modu olan 1,4 GHz'deki rezonansın genlik yanıtının, hücre canlılığı ile ne kadar güçlü bir ilişki içinde olduğunu göstermek için, her bir Quercetin dozu (10, 100, 500, 1000 µg/ml) için zamana bağlı kıyaslama yapılmıştır. 1,4 GHz'de S21 (dB) değeri ile MTT % canlılık verisinin grafikleri Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Burada doza bağlı olarak zamana göre canlılık oranının değişimi turuncu çizgi ile, sensör ölçümünden elde edilen iletim katsayısı değişimi yeşil çizgi ile gösterilmiştir.



Şekil 4.13. (a) 10 µg/ml, (b) 100 µg/ml, (c) 500 µg/ml, (d) 1000 µg/ml dozları uygulanmış hücre kültürlerinin sensör ölçümleri ile 1,4 GHz frekansında elde edilen S21 değerlerinin MTT canlılık testi sonuçları ile korelasyon grafikleri

MTT % canlılık inkübasyon süresi uzadıkça beklendiği gibi azalmaktadır yani hücre ölümü artmaktadır. SRR S21 genliği de MTT'deki bu azalmayı mükemmel bir paralellikte takip ederek azalmaktadır. İki veri seti arasındaki güçlü görsel paralellik, Çizelge 4.10'da hesaplanan Pearson Korelasyon Katsayısı ile doğrulanmıştır.

Çizelge 4.10. MTT canlılık testi ile 1,4 GHz sensör ölçümü korelasyon sonuçları

Sitotoksik Doz	Pearson Korelasyon Katsayısı (r)	İstatistiksel İlişki
10 µg/ml	0,908	Çok güçlü pozitif korelasyon
100 µg/ml	1,000	Mükemmel pozitif korelasyon
500 µg/ml	1,000	Mükemmel pozitif korelasyon
1000 µg/ml	0,943	Çok güçlü pozitif korelasyon

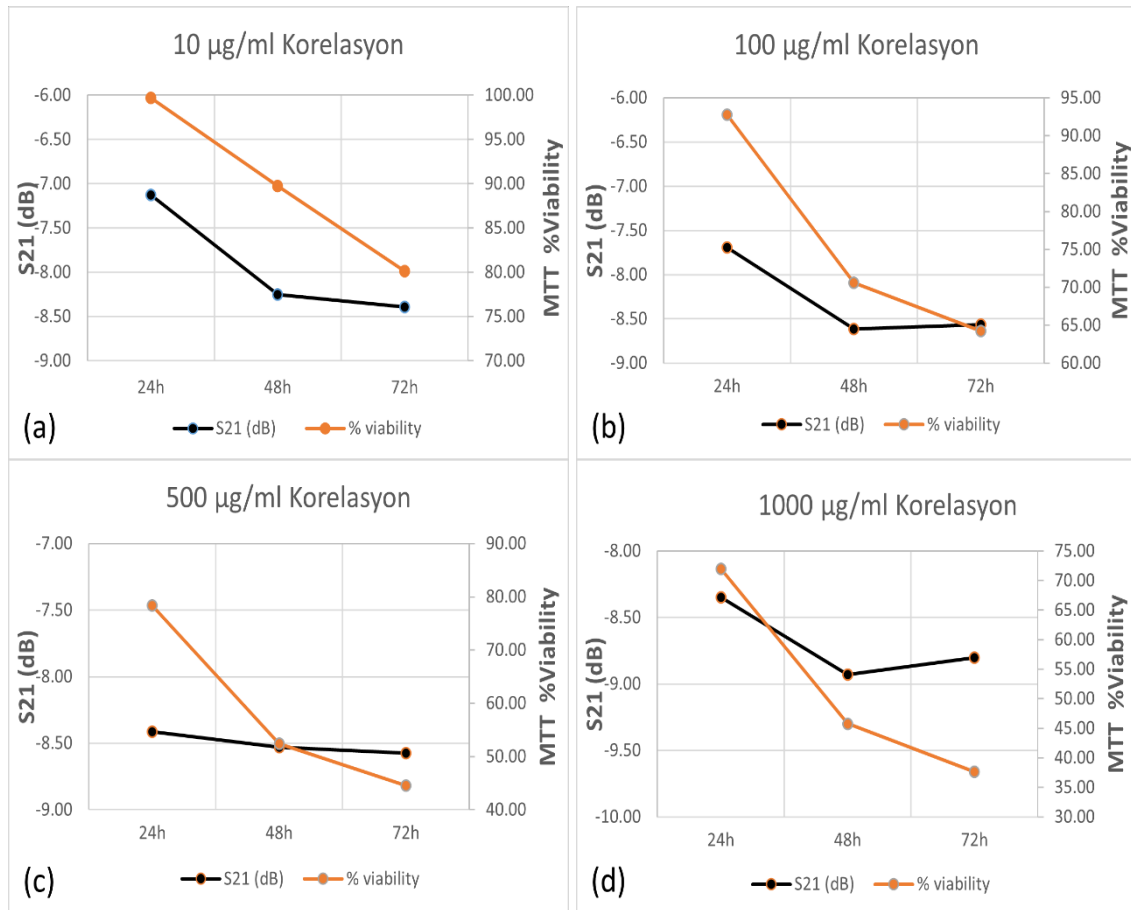
r değerlerinin 1,00 ve 0,90'ın üzerinde çıkması, tezin ana bulgusunu oluşturmaktadır: SRR sensörünün 1,4 GHz modundaki genlik yanıtı, hücre canlılığının

doğrudan ve yüksek doğruluklu bir göstergesidir. IC_{50} değeri hücrelerin %50'sinin ölmesini sağlayan ajan konsantrasyonunu göstermektedir. MTT boyası ile boyanarak spektrofotometre üzerinde OD verilerinin oranlanması ile elde edilen % canlılık değerlerine göre hücre sayısı 500 $\mu\text{g/ml}$ -48h numunesinde %52,38 ile yarıya düşmektedir. Sensörümüzün 1,4 GHz rezonansında ölçülen verilerine göre korelasyon değerlendirmesinde, 500 $\mu\text{g/ml}$ dozunda +1 korelasyon değeri ile tam uyum elde edilmiştir. Bu sonuç IC_{50} değeri ile desteklenmektedir.

Bu mükemmel pozitif korelasyon, tartışılan biyofiziksel mekanizmayı kesin olarak doğrulamaktadır: Yüksek canlılık sağlam hücre zarları nedeniyle düşük iyonik iletkenlik anlamına gelir. Düşük iletkenlik, daha yüksek S21 genlik değeri olarak ölçülür. Düşük canlılık hücre ölümü ve zar parçalanması nedeniyle ortama salınan iyonlardan dolayı yüksek iyonik iletkenlik anlamına gelir. Yüksek iletken ortam, mikrodalga sinyalini daha fazla absorbe eder, daha düşük S21 genlik değeri olarak ölçülür.

MTT canlılığındaki azalma ile S21 genliğindeki azalma arasındaki $r = 1,00$ olan mükemmel ilişki, 1,4 GHz rezonans modunun genlik parametresinin, sitotoksitesiteyi izlemek için son derece hassas ve geçerli bir metrik olduğunu kanıtlamaktadır.

Tasarımın çift modlu rezonans karakteristiğinin sağladığı avantajı ve tutarlılığını doğrulamak için korelasyon analizi ikinci rezonans modu için de tekrarlanmıştır. Analiz, birincil modda olduğu gibi, her bir doz seviyesi için zamana bağlı S21 genlik değişimini, MTT % canlılık verileriyle karşılaştırarak yapılmıştır. Elde edilen grafikler Şekil 4.14'te paylaşılmıştır. Burada doza bağlı olarak zamana göre canlılık oranının değişimi turuncu çizgi ile, sensör ölçümünden elde edilen iletim katsayısı değişimi siyah çizgi ile gösterilmiştir.



Şekil 4.14. (a) 10 µg/ml, (b) 100 µg/ml, (c) 500 µg/ml, (d) 1000 µg/ml dozları uygulanmış hücre kültürlerinin sensör ölçümleri ile 2,6 GHz frekansında elde edilen S21 değerlerinin MTT canlılık testi sonuçları ile korelasyon grafikleri

Tüm doz seviyelerinde, iki eğri arasında pozitif korelasyon gözlenmektedir ve mükemmel uyumu göstermektedir. MTT % canlılık, inkübasyon süresi uzadıkça azalmaktadır. SRR S21 genliği MTT'deki azalmayı paralel bir şekilde takip ederek azalmaktadır. Hesaplanan korelasyon katsayıları Çizelge 4.11'de verilmiştir.

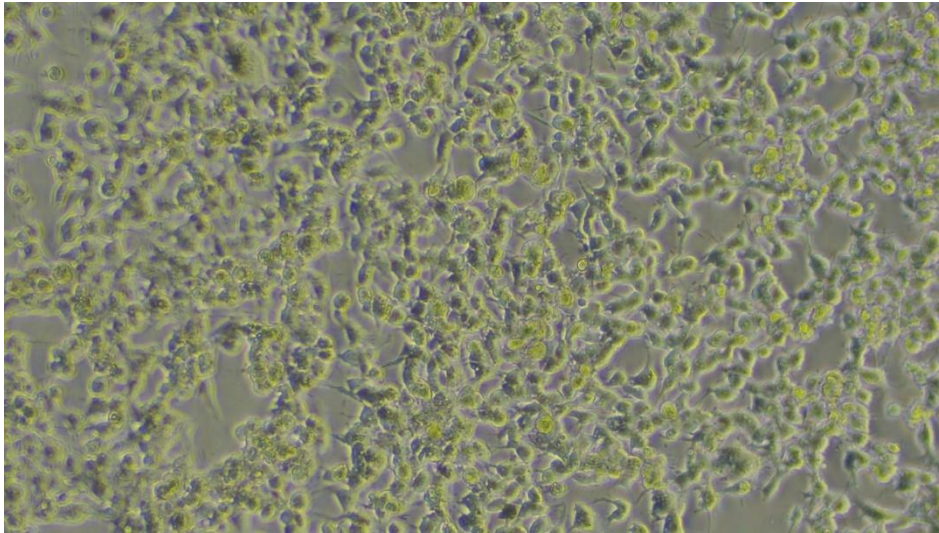
Çizelge 4.11. MTT canlılık testi ile 2,6 GHz sensör ölçümü korelasyon sonuçları

Sitotoksik Doz	Pearson Korelasyon Katsayısı (r)	İstatistiksel İlişki
10 µg/ml	0,917	Çok güçlü pozitif korelasyon
100 µg/ml	0,966	Çok güçlü pozitif korelasyon
500 µg/ml	0,998	Mükemmel pozitif korelasyon
1000 µg/ml	0,908	Çok güçlü pozitif korelasyon

İkinci mod için elde edilen r değerlerinin 0,91 ile 1,00 arasında olması, tezin ana bulgusunu pekiştirmektedir: Sensörün her iki rezonans modu da hücre canlılığının

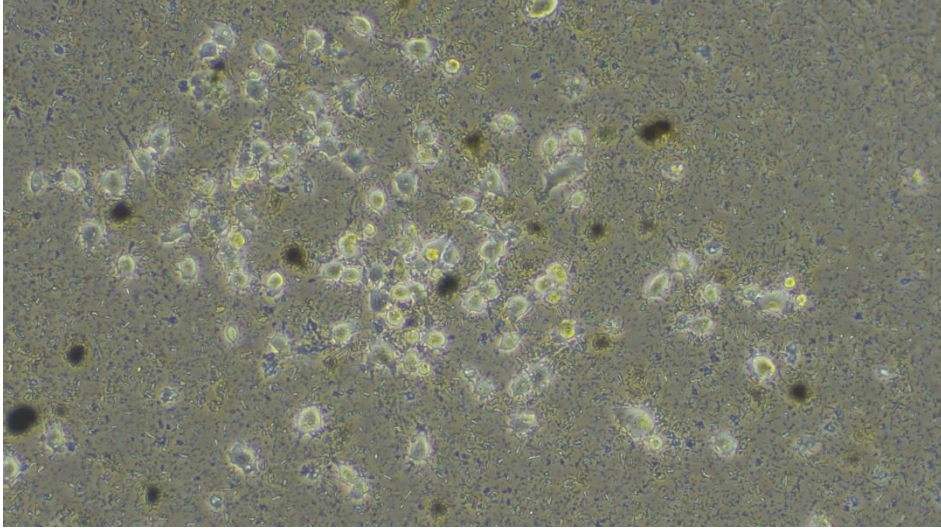
doğrudan ve yüksek doğruluklu bir göstergesidir. Her iki modda da benzer ve yüksek korelasyonlu davranış, hem sensörün kanser hücre kültürlerinde canlılık tespitinde kullanılabileceğini göstermiştir hem de iki modun tutarlı olduğunu ispatlamıştır. Geliştirilen sensörün çift modlu tasarımı, sitotoksositeye bağlı olarak ortamda artan iyonik kaybı algılayarak çalışmaktadır. Her iki rezonans modunun da bu temel fiziksel değişime mükemmel bir pozitif korelasyon ile yanıt vermesi, sensörün tasarımının sağlam olduğunu kanıtlamaktadır. Çift modlu yapı, tek bir rezonans modu kullanan sensörlere kıyasla çok daha yüksek güvenilirlik ve ölçüm doğruluğu sunar. İkinci rezonansta 500 $\mu\text{g/ml}$ dozunda yine mükemmel pozitif korelasyon yakalanmıştır ve IC_{50} ile uyumludur.

MTT testinden elde edilen % canlılık verilerini görsel olarak desteklemek ve Quercetin'in hücre morfolojisi üzerindeki fiziksel etkisini doğrulamak amacıyla, kültür plakalarından inverted mikroskop görüntüleri alınmıştır.



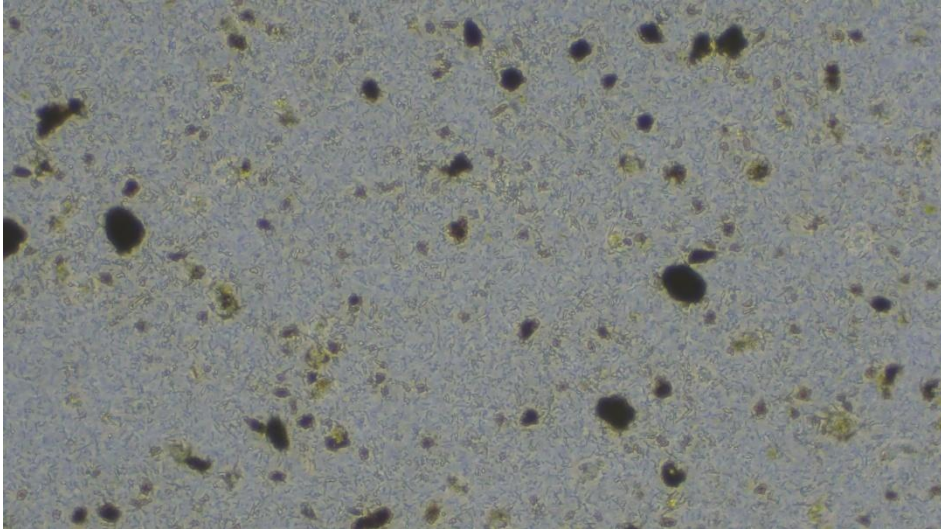
Şekil 4.15. BxPC-3 10 $\mu\text{g/ml}$ -24h mikroskop görüntüsü

Şekil 4.15'te en düşük sitotoksosite seviyesinde hücre kültürünün mikroskop görüntüsü bulunmaktadır. En düşük sitotoksosite seviyesinde, yüksek yoğunlukta, flask plastik yüzeyine yapışık ve sağlıklı BxPC-3 hücreleri görülmektedir. MTT canlılık analizinde %99,7 oranında canlılık hesaplanmıştır.



Şekil 4.16. BxPC-3 500 µg/ml-48h mikroskop görüntüsü

Şekil 4.16'da orta sitotoksosite düzeyi olarak tanımlanabilecek 500 µg/ml-48h dozunda Quercetin uygulanmış BxPC-3 hücre hattının mikroskop görüntüsü verilmiştir. Ciddi hücre yoğunluk kaybı yaşanmış, kalan hücreler formunu kaybetmiş ve yuvarlaklaşmıştır. Tüm görüntülemeler eşit alanda yapılmıştır yani yoğunluk analizi kolaylıkla yapılabilir.



Şekil 4.17. BxPC-3 1000 µg/ml-72h mikroskop görüntüsü

Şekil 4.17'de 1000 µg/ml-72h yüksek sitotoksosite sonucu hücreler gösterilmektedir. Kültür alanı ölü ve parçalanmış hücre parçacıkları dışında neredeyse boştur. Hiçbir sağlıklı/yapışık hücre gözlenmemektedir. Parçalanmış hücreler

süspansiyon içerisinde yüzmektedir. En düşük canlılık değeri elde edilen MTT sonucunu doğrulamaktadır.

Hem MTT verileri hem de mikroskopi görüntüleri Quercetin'in doza ve süreye bağlı olarak PANC-1 ve BxPC-3 hücrelerinde güçlü bir sitotoksosite oluşturduğunu ortak bir şekilde göstermiştir. Biyolojik gerçeklikler, mikrodalga sensör bulgularının doğrulanması için sağlam bir temel oluşturmuştur. Quercetin'in etkisi, süre ve dozun katkısı görülmüş, dielektrik özelliklerin sitotoksosite ile değiştiği tespit edilmiş ve metalmalzeme tabanlı sensör ile hücre canlılık oranındaki değişimin yakalanabileceği kesinleştirilmiştir.

4.6. Veri Analizleri

Dielektrik verilerin makine öğrenmesi ile sınıflandırılması analiz aşamasının amacı, önceki bölümlerde korelasyon gösterdiği kanıtlanan dielektrik verilerin, farklı sitotoksosite seviyelerini (düşük, orta, yüksek, çok yüksek) otomatik olarak sınıflandırma başarısını test etmektir. Bu amaçla, VNA ile ölçülen 108 verilik set kullanılmıştır. Bu veriler, üç farklı makine öğrenmesi algoritması (KNN, REPTree ve RF) ile analiz edilmiştir. Sınıflandırma performans metrikleri Çizelge 4.12'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.12. Sınıflandırma algoritmalarının performanslarının karşılaştırılması

Algoritma	Doğruluk %	Kappa İstatistiği	Ortalama Precision	Ortalama Recall	F-Measure	ROC AUC Alanı
RF	97,37	0,96	0,97	0,97	0,97	0,99
REPTree	92,10	0,89	0,92	0,92	0,92	0,90
KNN	81,25	0,74	0,80	0,81	0,78	0,95

Bulgular, üç modelin karşılaştırmalı uyuşmasının güvenilir olduğunu (Kappa > 0,74) göstermekle birlikte Rastgele Orman (RF) algoritmasının diğer algoritmalarından üstün olduğunu ortaya koymaktadır. RF, %97,37 gibi bir doğruluk oranı ve 0,99 gibi yüksek bir ROC AUC değeri elde etmiştir. Kappa istatistiğinin 1'e yakın olması, modelin tahmin gücünün çok yüksek olduğunu ve rastgele sınıflandırmadan uzak olduğunu teyit etmektedir. Çok yüksek olarak etiketlenmesi gereken bir örneği yüksek olarak etiketleyerek sadece 1 hata yapmıştır. REPTree, %92,11 doğruluk oranı ile başarılı bir sonuç vermiştir. Modelin hataları komşu sınıflar arasındadır. KNN, %81,25 doğruluk oranı ile bu veri seti için en zayıf performansı sergilemiştir. Modelin en büyük hatayı orta sitotoksosite sınıfını tespit etmede yaptığı ancak diğer sınıfları daha iyi tahmin ettiği

görülmüştür. Bu durum, sadece genel doğruluk metriğine bakmanın yanıltıcı olabileceğini ve sınıf bazında performans analizinin önemini vurgulamaktadır.

Bulgular, mikrodalga frekanslarında yapılan dielektrik ölçümlerin, makine öğrenmesi algoritmaları ile birleştirildiğinde sitotoksisite seviyelerinin yüksek doğrulukla sınıflandırılabilirliğini göstermektedir. Bu sonuç, VNA koaksiyel prob veya SRR sensöründen elde edilen verilerin gelecekte, bir laborantın yorumuna gerek kalmadan, doğrudan sitotoksisite seviyesini tahmin edebilen otomatikleştirilmiş bir karar destek sistemi için temel oluşturabileceğini göstermektedir.

Önceki analiz, prob ile ölçülen ham dielektrik verilerin sınıflandırılabilirliğini göstermiştir. Tezin ana hedefi, algılamayı pratik ve düşük maliyetli bir SRR sensörü ile yapmaktır. Geliştirilen sensör verisi ile sitotoksisite sınıflandırılması da yapılmıştır. Deneysel SRR sensör verileri girdi olarak kullanılmıştır. Her bir numunenin her iki rezonans modundan elde edilen S-parametreleri, sitotoksisite seviyelerini (çok düşük, düşük, orta, yüksek, çok yüksek) sınıflandırmak için RF ve REPTree algoritmalarında analiz edilmiştir. Geliştirilen SRR sensör verisi ile yapılan sınıflandırma performansı RF %96,15 doğruluk ile S21 değerlerine göre sitotoksisite miktarını doğru şekilde sınıflandırmıştır. Modelin yaptığı tek hata çok düşük örneği düşük olarak sınıflandırmasıdır. Bu hata, iki komşu sınıf arasında meydana gelmiştir ve modelin ezber yapmadığını, mantıksal ve kabul edilebilir sınırlar içinde hata yaptığını gösteren bir sağlamlık işaretidir. REPTree algoritması %92,31 gibi yüksek bir doğruluk elde etmiştir. REPTree çok düşük olarak etiketlenen 2 örneğin 2'sini de düşük olarak sınıflandırmıştır. Her iki modelde de karışan bu durum çok yakın S21 sonuçları bulunan kontrol ve 10 µg/ml-24h numuneleridir.

Makine öğrenmesi analizinde metodolojik sağlamlığı artırmak amacıyla, standart sınıflandırmanın ötesine geçilmiştir. Sınıflarımız sıralı bir yapıya sahiptir. Sıralı bilgiyi modellemeye zorlamak için özel bir meta-sınıflandırıcı olan OrdinalClassClassifier (temel sınıflandırıcı olarak RF ile) test edilmiştir. OrdinalClassClassifier ile elde edilen sonuç, %92,31 doğruluk ve 0,9 Kappa istatistiği vermiştir. Hata matrisi incelendiğinde, bu metodun 2 hata yaptığı görülmüştür. Standart Random Forest, özel olarak tasarlanmış OrdinalClassClassifier yönteminden daha iyi performans göstermiştir. Bu durum, geliştirdiğimiz sensörden alınan sinyallerin temiz ve sınıflar arasındaki sınırların net olduğunu kanıtlar. Standart Random Forest algoritması, verideki bu doğal sıralı yapıyı ona özel olarak öğretilmesine gerek kalmadan kendiliğinden öğrenebilmiştir.

Yapılan iki makine öğrenmesi analizi, hem temel fiziksel prensip (dielektrik sabit) hem de bu prensiple çalışan pratik SRR sensör (S21 verisi), %96-%97 gibi yüksek bir doğrulukla sitotoksisite seviyelerini otomatik olarak sınıflandırabilmektedir. Bu, geliştirilen sensör sisteminin, gelecekte otomatikleştirilmiş, hızlı bir biyolojik analiz platformu olarak kullanılabilmesi için gerekli olan pratik geçerliliği sağladığını göstermektedir.

SRR sensör verilerinin sitotoksisite derecesine göre sadece sınıflandırması değil, aynı zamanda MTT metodunun ürettiği gerçek sayısal % canlılık değerini tahmin etme (regresyon) potansiyeli de araştırılmıştır. Lineer Regresyon, Rastgele Orman, SMOreg (SVM) ve Multilayer Perceptron ile deneysel SRR S21 verilerini girdi olarak kullanarak % canlılık değerini tahmin etmek üzere eğitilmiş ve test edilmiştir. Modellerin 10-katlı çapraz doğrulama ile % canlılık değerini tahmin etme performansı Çizelge 4.13'te özetlenmiştir. Korelasyon Katsayısı (R) tahmin edilen değer ile gerçek değer arasındaki ilişkinin gücü 1,0'a ne kadar yakınsa o kadar iyidir.

Çizelge 4.13. Farklı regresyon algoritmalarının SRR sensör verilerinden MTT % canlılık değerini tahmin etme performansı

Algoritma Modeli	Korelasyon Katsayısı(R)
Lineer Regresyon	0,945
SMOreg (SVM)	0,974
Multilayer Perceptron	0,929
RF	0,920

Dört model de sensör sinyali ile % canlılık arasında çok güçlü bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu durum, sensör sinyalinin, biyolojik canlılığın kantitatif bir yansıması olduğunu doğrulamaktadır. SMOreg (SVM) modeli $R = 0,974$ ile en yüksek korelasyonu yakalamıştır. Biyosensörün ürettiği sinyalin, % canlılık ile $R = 0,945$ gibi yüksek bir doğrusallıkta ilişkili olması ve en basit Lineer Regresyon modeliyle bile gerçek MTT değerini neredeyse hatasız tahmin etmesi, bu platformun pratik değerini ortaya koymaktadır. Geliştirilen SRR biyosensör sisteminin, gelecekte MTT testine gerek kalmadan, doğrudan % canlılık değerini tahmin edebilen bir ölçüm aracı olarak kullanılabileceğini güçlü bir şekilde göstermektedir.

Hassas frekans bölgelerinin belirlenmesi/frekans tepkisi haritalaması analizi, koaksiyel prob ile ölçülen dielektrik sabit verileri içerisinde, sitotoksisiteye karşı en hassas olan özel frekans bölgelerini belirlemeyi amaçlamıştır. Bu analiz, gelecekteki

mikrodalga biyosensör tasarımlarına rehberlik etmek için incelenmesi gereken frekansı ortaya koymaktadır. Dielektrik sabiti değerleri, MATLAB ortamında Frekans Tepkisi Haritalaması ve ANOVA testlerine tabi tutulmuştur.

Analizler, sitotoksik maddelerin etkisine bağlı olarak dielektrik sabitinde önemli değişimler olduğunu doğrulamıştır. Oluşturulan ısı haritaları ve p-değeri grafikleri frekans ve doz arasındaki ilişkiyi görsel olarak temsil ederek, belirli bölgelerdeki hassasiyeti açıkça göstermiştir. ANOVA testi, incelenen frekans bandındaki birçok noktada, farklı doz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu tespit etmiştir. Dielektrik sinyaldeki değişimin rastgele bir gürültü olmadığını, sitotoksitenin gerçek bir etkisi olduğunu doğrulamıştır.

Frekans tepkisi haritalaması, özellikle 48 saatlik maruziyet sonrasında dielektrik sabitindeki değişimlerin hızlandığını göstermiştir. Yani biyolojik sürecin bu zaman diliminde zirveye ulaştığına işaret edebilir. Bu bulgu, mikrodalga biyosensörlerin tasarımı için önemli bir referans noktası sunmaktadır. Gelecekte, tüm frekans bandını taramak yerine, doğrudan ilgili frekansta rezonansa giren yüksek hassasiyetli sensörler tasarlamak, algılama limitini ve sinyal-gürültü oranını büyük ölçüde iyileştirebilir. Yapılan analiz, mikrodalga teknolojisinin biyolojik materyallerin tanınması için potansiyelini vurgulamakta ve biyolojik mekanizmaları anlamak için ileri çalışmalara zemin hazırlamaktadır.

Deneysel SRR biyosensör ölçümleri, VNA'dan alınan ham S21 verilerine dayanmaktadır. Mikrodalga ölçümleri olarak çevresel elektromanyetik parazitler ve biyolojik varyasyonlardan kaynaklanan gürültü ve kayma içerebilir. Bu gürültü, rezonans çukurunun tam konumunu (f_r) ve derinliğini (S21 dB) maskeleyerek düşük konsantrasyonlardaki hassas ölçümlerin güvenilirliğini azaltabilir. Bu nedenle, Yapay Zeka (AI) tabanlı gürültü azaltma modellerinin (DAE, 1D-CNN, Hibrit Wavelet+AI), klasik filtreleme tekniklerine (FFT, Wavelet) kıyasla sensör sinyal kalitesini ne ölçüde iyileştirdiği belirlenmiştir. Modeller, fiziksel VNA gürültülerini ve kaymalarını taklit eden veri artırma ile oluşturulmuş bir eğitim setinde eğitilmiştir. Performans, iki ana metrik üzerinden değerlendirilmiştir; sinyalin ne kadar temizlendiği (SNR artışı) ve sinyalin orijinal formunun (rezonans çukuru konumu) ne kadar korunduğu (rezonans sapması, Δf_r). Sonuçlar Çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.14. Farklı gürültü azaltma yöntemlerinin SNR üzerindeki ortalama kazancı ve rezonans sapması

Yöntem	Δ SNR (dB)	Medyan (Δ fr)	Yayılm (MHz)
FFT	≈ -1	≈ 40	30–40
Wavelet (db4)	$\approx 0-0,2$	$\approx 0-5$	0–10
AI (Hibrit Wavelet+CAE)	$\approx +15-16$	≈ 20	10–30

FFT tabanlı düşük geçiren filtreler gürültüyü bastırmaya çalışırken sinyalin kendisini bozmuştur. Rezonans çukurunu 40 MHz'e kadar kaydırarak ve Q-faktörünü düşürerek, sensörün en değerli bilgisi olan konum bilgisini yok etmiştir. Bu yöntem, SRR analizi için uygun değildir. Klasik wavelet (dalgacık) eşikleme, rezonans formunu korumada en başarılı klasik yöntemdir. Sadece 0-5 MHz'lik bir sapma ile dip konumunu mükemmel bir şekilde korumuştur. Ancak, gürültüyü temizlemede başarısız olmuş, sinyali ham haliyle bırakmıştır. AI modeli, iki yöntemin en iyi özelliklerini birleştirmiştir. Eğitim sürecinde dalgacık temsillerini eğitici olarak kullanarak, rezonans çukurunun formunu dalgacığa yakın bir doğrulukta korumayı başarmıştır. Aynı zamanda, evrimsel filtrelerin (CNN) gürültü morfolojisini öğrenme yeteneği sayesinde, klasik yöntemlerin ulaşamadığı bir SNR artışı sağlamıştır. Zaman-frekans analizleri (CWT/STFT) bu bulguyu doğrulamıştır, AI ile işlenmiş sinyallerin enerji haritaları, gürültüden arınmış, rezonans bölgeleri daha keskin ve kontrastlı hale gelmiştir. Bu analiz, mikrodalga biyosensör ölçümlerinde yapay zeka temelli gürültü azaltma yöntemlerinin, klasik filtreleme tekniklerine kıyasla SNR'ı artırırken, formu koruma arasında denge sunduğunu göstermektedir. Klinik uygulamalarda veya düşük konsantrasyonlu numunelerde, gürültülü bir ortamda bile sensörden elde edilen verinin güvenilir ve tekrarlanabilir olmasını sağlamıştır. Sensör sisteminin klinik uyumluluğa ve gömülü sistem entegrasyonuna yaklaşması için önemlidir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu bölümde, çalışma kapsamında elde edilen veriler ve sonuçlar ile ulaşılan genel değerlendirmelerden bahsedilmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre gelecek çalışmalara tavsiyelerde bulunulmuştur.

5.1. Sonuçlar

Bu çalışma *in vitro* kanser araştırmalarında hücre canlılığının (viability) izlenmesi için kullanılan geleneksel yöntemlere alternatif olabilecek, gerçek zamanlı, işaretli ve non-invaziv bir yöntem geliştirme ihtiyacından yola çıkmıştır. Çalışmanın temel amacı, PANC-1 ve BxPC-3 pankreas kanseri hücre hatlarında Quercetin kaynaklı sitotoksiteyi ölçebilen, metalmalzemeye tabanlı bir Ayrık Halka Rezonatör (SRR) mikrodalga biyosensör sistemi tasarlamak, üretmek ve bu sistemin performansını MTT ve mikroskopi gibi standart biyolojik yöntemlerle doğrulamaktır.

Bölüm 3'te anlatılan metodoloji ve elde edilen sonuçlar ile Bölüm 4'te sunulan ve tartışılan kapsamlı deneysel, simülasyonlu ve istatistiksel analizler sonucunda, tezin ana hipotezi başarıyla doğrulanmıştır. Ulaşılan temel sonuçlar aşağıda sıralanmıştır:

Temel fiziksel prensibin kanıtlanması: VNA-Koaksiyel Prob ile yapılan dielektrik karakterizasyon, hücre canlılığındaki azalmanın, kültür süspansiyonunun dielektrik sabitinde (ϵ') doğrudan ve ölçülebilir bir azalmaya yol açtığını göstermiştir. Bu iki parametre arasında $r > 0,95$ gibi çok güçlü bir pozitif lineer korelasyon saptanmıştır. Bu bulgu, sitotoksitenin bir biyofiziksel belirteç bıraktığını kanıtlamıştır.

Sensör tasarımının ve doğrulanmasının başarısı: CST Microwave Studio® programında VNA-Koaksiyel Prob verileri kullanılarak optimize edilen çift modlu biyosensör tasarımı, FR4 alttaş üzerinde başarıyla üretilmiş ve boş sensör ölçümleri simülasyonla uyum göstermiştir.

Sensör performansının biyolojik doğrulanması: Geliştirilen SRR biyosensör ile yapılan deneysel ölçümler, sitotoksiteye (doz ve süreye) bağlı olarak hücre canlılığındaki azalmanın, sensörün her iki rezonans modunda da mükemmel yakın bir korelasyonla tespit edilebildiğini kanıtlamıştır. Hücre ölümüyle artan iyonik kayıp, her iki modda da S21 genliğinde düşüşe yol açmıştır.

Görsel ve sayısal uyum: Sensörün ve MTT'nin ölçtüğü değişimler, inverted mikroskop altında çekilen morfoloji görüntüleri ile görsel olarak doğrulanmıştır. Yüksek

doz ve sürelerde, MTT ve sensör sinyallerinin ölü nitelendirdiği kültürlerde, hücrelerin fiziksel olarak parçalandığı ve yüzeyden tamamen kaybolduğu gözlenmiştir.

Otomatikleştirilmiş sınıflandırma başarısı: Geliştirilen sensöründen alınan S21 verilerinin, Rastgele Orman gibi bir makine öğrenmesi algoritması ile analiz edildiğinde, farklı sitotoksosite seviyelerini %96,15 doğruluk ve 0,95 Kappa istatistiği ile otomatik olarak sınıflandırabildiği kanıtlanmıştır.

Tahminleme başarısı: Sensör verilerinin, SMOreg veya Lineer Regresyon gibi regresyon modelleriyle analiz edildiğinde, MTT % canlılık değerini $R = 0,97$ gibi çok yüksek bir korelasyon ve düşük bir hata payı ile doğrudan tahmin edebildiği gösterilmiştir.

Pratik uygulanabilirlik ve sinyal iyileştirme: Yapay zeka tabanlı sinyal işleme modellerinin, sensörden alınan ham S21 verilerindeki gürültüyü, rezonans çukurunun konumunu bozmadan temizleyebildiği ve sinyal-gürültü oranını artırabildiği gösterilmiştir. Bu, sensörün gürültülü klinik veya laboratuvar ortamlarında bile güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak tez çalışması, ham dielektrik verilerle beslenen, optimize edilen, üretilen, biyolojik olarak doğrulanan ve ölçüm cihazına dönüştürülen bütüncül bir mikrodalga biyosensör sunmuştur. Elde edilen bulgular, bu sistemin *in vitro* sitotoksosite analizleri için geleneksel yöntemlere kıyasla daha hızlı, non-invaziv, otomatikleştirilebilir, geçerli bir alternatif olduğunu kanıtlamaktadır.

Disiplinler arası katkı: Elektronik mühendisliği, elektromanyetik teori, biyoteknoloji, tıp ve hücre biyolojisini birleştiren çok-disiplinli bir sensör geliştirme yaklaşımı ortaya konmuştur.

Uygulama potansiyeli: Sensör; düşük hacimde numune gerektirmektedir, sarf malzeme ihtiyacı bulunmamaktadır, tekrarlı olarak kullanılabilir ve taşınabilir. Maliyet, kullanım kolaylığı ve zaman avantajı sağlamaktadır. Bu özellikleriyle, ilaç tarama ve sitotoksosite testlerinde yüksek verimli ölçüm platformlarına adapte edilebilir.

Tez, literatüre aşağıdaki temel özgün katkıları sunmaktadır:

Bütüncül metodoloji: Literatürdeki birçok çalışmanın aksine, koaksiyel prob ile gerçek kanserli hücrelerin dielektrik karakterizasyonundan başlayıp bu veriyi tasarım optimizasyonunda kullanan, sensör üretip, sensörü altın standart MTT ile doğrulayan ve son olarak bu veriyi makine öğrenmesi ile bir sisteme dönüştüren bütüncül bir metodoloji sunmuştur.

Çift modlu korelasyon kanıtı: Sensörün çift modlu yapısının, sitotoksositeye bağlı hücre canlılığı değişimini her iki modda da etkili bir tutarlılıkla algıladığı kanıtlanarak, tek modlu sensörlere kıyasla daha sağlam ve güvenilir bir iç-doğrulama sunulmuştur.

Makine öğrenmesi entegrasyonu: Çalışma, bir SRR sensörünü, ham S21 verilerini kullanarak %96 doğrulukla sitotoksosite seviyelerini sınıflandırabilen ve % canlılık değerini $R=0,97$ korelasyonla tahmin edebilen bir makine öğrenmesi modeli ile birleştiren öncü çalışmalardan biridir. Bu, sensörü basit bir algılayıcı olmaktan çıkarıp bir ölçüm cihazı haline getirmiştir.

5.2. Öneriler

Bu tez çalışmasında elde edilen başarılı sonuçlar, mikrodalga biyosensörlerin potansiyelini ortaya koymakla birlikte bu alanda ileride yürütülecek araştırmalar için aşağıdaki önerilerde bulunmaktadır:

Biyolojik kapsamın genişletilmesi: Bu çalışma PANC-1 ve BxPC-3 hücre hatları ve Quercetin ajanı ile sınırlandırılmıştır. Gelecek çalışmalarda, sistemin genellenebilirliğini test etmek için farklı kanser hücre hatları ve farklı etki mekanizmalarına sahip sitotoksik ajanlar ile testler yapılabilir.

Mikroakışkan entegrasyonu: Hücre kültürü süspansiyonlarının manuel olarak sensör üzerine damlatılması, tekrarlanabilirlik sorunlarına yol açabilir. Sensörün, hücreleri otomatik olarak algılama bölgesine taşıyan ve sabit bir hacimde tutan mikroakışkan bir kanal ile entegre edilmesi, sistemin otomasyonunu ve güvenilirliğini artıracaktır.

Gerçek zamanlı izleme: Sensörün non-invaziv yapısı en büyük avantajıdır. Gelecekte, sensör sistemi bir inkübatör içine yerleştirilerek aynı hücre popülasyonunun aralıksız ve gerçek zamanlı olarak izlenmesi sağlanabilir.

Farklı frekans bantlarının değerlendirilmesi: Bu sensör yapısı 1-3 GHz arasında tasarlanmıştır farklı frekanslarda sensör yapısı geliştirilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Adan, A., Kiraz, Y., ve Baran, Y. (2016). Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Current pharmaceutical biotechnology*, 17(14), 1213-1221. <https://doi.org/10.2174/1389201017666160808160513>
- Agilent Technologies. (2006). *Basics of Measuring the Dielectric Properties of Materials*. Agilent Technologies.
- Aissa, A. F., Islam, A. B. M. M. K., Ariss, M. M., Go, C. C., Rader, A. E., Conrardy, R. D., Gajda, A. M., Rubio-Perez, C., Valyi-Nagy, K., Pasquinelli, M., Feldman, L. E., Green, S. J., Lopez-Bigas, N., Frolov, M. V., ve Benevolenskaya, E. V. (2021). Single-cell transcriptional changes associated with drug tolerance and response to combination therapies in cancer. *Nature Communications*, 12(1), 1628. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21884-z>
- Akash, M. S. H., ve Rehman, K. (2020). Introduction to Spectrophotometric Techniques. İçinde M. S. H. Akash ve K. Rehman (Ed.), *Essentials of Pharmaceutical Analysis* (ss. 19-27). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1547-7_2
- Alrayes, N., ve Hussein, M. I. (2021). Metamaterial-based sensor design using split ring resonator and Hilbert fractal for biomedical application. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 31, 100395. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2020.100395>
- Altıntaş, O., Aksoy, M., Ünal, E., ve Karaaslan, M. (2019). Chemical Liquid and Transformer Oil Condition Sensor Based on Metamaterial-Inspired Labyrinth Resonator. *Journal of The Electrochemical Society*, 166(6), B482-B488. <https://doi.org/10.1149/2.1101906jes>
- Amanati Shahri, A., Omidvar, A. H., Pamplona Rehder, G., ve Serrano, A. L. C. (2022). A Microwave-Based Microfluidic Cell Detecting Biosensor for Biological Quantification Using the Metallic Nanowire-Filled Membrane Technology. *Sensors*, 22(9), 3265. <https://doi.org/10.3390/s22093265>
- Amin, B., Elahi, M. A., Shahzad, A., Porter, E., ve O'Halloran, M. (2019). A review of the dielectric properties of the bone for low frequency medical technologies. *Biomedical Physics & Engineering Express*, 5(2), 022001. <https://doi.org/10.1088/2057-1976/aaf210>
- Aminuzzaman, M. M., ve Hossam-E-Haider, M. (2024). Design and analysis of a metamaterial based biosensor to determine blood glucose concentration. *International Journal of Electrical and Computer Engineering (IJECE)*, 14(4), 4088-4096. <https://doi.org/10.11591/ijece.v14i4.pp4088-4096>
- Arias, D. M., Collins, J., Noel, P., Von Hoff, D. D., ve Han, H. (2021). Abstract 3121: Characterization of nab-paclitaxel resistant and gemcitabine resistant BxPC3 and MIA PaCa-2 pancreatic cancer cells. *Cancer Research*, 81(13_Supplement), 3121. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2021-3121>
- Asgharian, P., Tazehkand, A. P., Soofiyani, S. R., Hosseini, K., Martorell, M., Tarhriz, V., Ahangari, H., Cruz-Martins, N., Sharifi-Rad, J., Almarhoon, Z. M., Ydyrys, A., Nurzhanyat, A., Yessenbekova, A., ve Cho, W. C. (2021). Quercetin Impact in Pancreatic Cancer: An Overview on Its Therapeutic Effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021(1), 4393266. <https://doi.org/10.1155/2021/4393266>

- Aslantürk, Ö. S. (2018). In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. İçinde M. L. Larramendy ve S. Soloneski (Ed.), *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>
- ATCC: *The Global Bioresource Center*. (t.y.). <https://www.atcc.org>. Geliş tarihi 27 Ekim 2025, gönderen <https://www.atcc.org/>
- Ateş, T. F., ve Özkan, A. O. (2025a). Biomedical Applications of Electromagnetic Waves. İçinde *Theory, Context, and Practice in Engineering* (2025. bs, C. 1, s. 90). Duvar Yayınları.
- Ateş, T. F., ve Özkan, A. O. (2025b). Metamaterial-Based Microwave Sensors. İçinde *Contemporary Research in Engineering* (2025. bs, C. 1, s. 140). All Sciences Academy.
- Ateş, T. F., Özkan, A. O., ve Açıkgöz, H. (2019). Pasif RFID Etiket Konumunu Belirlemeye Yönelik UHF Anten Tasarımı. *Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 1(2), 112-117.
- Avnet, S., Pompo, G. D., Borciani, G., Fischetti, T., Graziani, G., ve Baldini, N. (2024). Advantages and limitations of using cell viability assays for 3D bioprinted constructs. *Biomedical Materials*, 19(2), 025033. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ad2556>
- Azab, M. Y., Hameed, M. F. O., Nasr, A. M., ve Obayya, S. S. A. (2021). Highly Sensitive Metamaterial Biosensor for Cancer Early Detection. *IEEE Sensors Journal*, 21(6), 7748-7755. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2021.3051075>
- Babacan, Ü., Kaba, A., Akçakale, F., Cengiz, M. F., ve Akinci, E. (2022). Optimization of some parametric values of MTT for the determination of human melanoma (SK-Mel-30) cell viability. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 5(1), 9-20. <https://doi.org/10.38001/ijlsb.991615>
- Bagci, F., Gulsu, M. S., ve Akaoglu, B. (2022). Dual-band measurement of complex permittivity in a microwave waveguide with a flexible, thin and sensitive metamaterial-based sensor. *Sensors and Actuators A: Physical*, 338, 113480. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2022.113480>
- Barreiros Dos Santos, M., Rodriguez-Lorenzo, L., Queirós, R., ve Espiña, B. (2022). Fundamentals of Biosensors and Detection Methods. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1379, 3-29. https://doi.org/10.1007/978-3-031-04039-9_1
- Bell, J., Huang, Y., Yung, S., Qazi, H., Hernandez, C., Lin, B., Qiu, J., ve Chan, L. (2022). Abstract 2748: High-speed and high-precision FL-based cell count and viability assays using the Cellaca™ MX high-throughput cell counter. *Cancer Research*, 82(12_Supplement), 2748-2748. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2022-2748>
- Beloglazova, Y., Nikitiuk, A., Voronina, A., Gagarskikh, O., Bayandin, Y., Naimark, O., ve Grishko, V. (2021). Label-Free Single Cell Viability Assay Using Laser Interference Microscopy. *Biology*, 10(7), 590. <https://doi.org/10.3390/biology10070590>
- Benesty, J., Chen, J., Huang, Y., ve Cohen, I. (2009). Pearson Correlation Coefficient. İçinde I. Cohen, Y. Huang, J. Chen, ve J. Benesty, *Noise Reduction in Speech*

- Processing* (C. 2, ss. 1-4). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-00296-0_5
- Beruete, M., ve Jáuregui-López, I. (2020). Terahertz Sensing Based on Metasurfaces. *Advanced Optical Materials*, 8(3), 1900721. <https://doi.org/10.1002/adom.201900721>
- Bhatia, D., Paul, S., Acharjee, T., ve Ramachairy, S. S. (2024). Biosensors and their widespread impact on human health. *Sensors International*, 5, 100257. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2023.100257>
- Bonello, J., Farrugia, L., ve Sammut, C. (2018). A Review of Studies Investigating the Dielectric Properties of Biological Tissues for Application in Hyperthermia and Microwave Thermal Ablation. *Xjenza Online*, 2, 86-93. <https://doi.org/10.7423/XJENZA.2018.2.02>
- Borra, R. C., Lotufo, M. A., Gagioti, S. M., Barros, F. D. M., ve Andrade, P. M. (2009). A simple method to measure cell viability in proliferation and cytotoxicity assays. *Brazilian Oral Research*, 23(3), 255-262. <https://doi.org/10.1590/S1806-83242009000300006>
- Buranaamnuay, K. (2021). The MTT assay application to measure the viability of spermatozoa: A variety of the assay protocols. *Open Veterinary Journal*, 11(2), 251-269. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2021.v11.i2.9>
- Cadena-Herrera, D., Esparza-De Lara, J. E., Ramírez-Ibañez, N. D., López-Morales, C. A., Pérez, N. O., Flores-Ortiz, L. F., ve Medina-Rivero, E. (2015). Validation of three viable-cell counting methods: Manual, semi-automated, and automated. *Biotechnology Reports*, 7, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2015.04.004>
- Cai, L., Qin, X., Xu, Z., Song, Y., Jiang, H., Wu, Y., Ruan, H., ve Chen, J. (2019). Comparison of Cytotoxicity Evaluation of Anticancer Drugs between Real-Time Cell Analysis and CCK-8 Method. *ACS Omega*, 4(7), 12036-12042. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b01142>
- Campling, B. G., Pym, J., Baker, H. M., Cole, S. P. C., ve Lam, Y.-M. (1991). Chemosensitivity testing of small cell lung cancer using the MTT assay. *British Journal of Cancer*, 63(1), 75-83. <https://doi.org/10.1038/bjc.1991.16>
- Čáp, I., Čápková, K., Smetana, M., ve Borík, Š. (2021). Electromagnetic and Acoustic Waves in Bioengineering Applications. Içinde I. Čáp, K. Čápková, M. Smetana, ve Š. Borík, *Electromagnetic and Acoustic Waves in Bioengineering Applications*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101655>
- Carreño, E. A., Alberto, A. V. P., de Souza, C. A. M., de Mello, H. L., Henriques-Pons, A., ve Anastacio Alves, L. (2021). Considerations and Technical Pitfalls in the Employment of the MTT Assay to Evaluate Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Applied Sciences*, 11(6), 2603. <https://doi.org/10.3390/app11062603>
- Chalklen, T., Jing, Q., ve Kar-Narayan, S. (2020). Biosensors Based on Mechanical and Electrical Detection Techniques. *Sensors*, 20(19), 5605. <https://doi.org/10.3390/s20195605>
- Chamchoy, K., Pakotiprapha, D., Pumirat, P., Leartsakulpanich, U., ve Boonyuen, U. (2019). Application of WST-8 based colorimetric NAD(P)H detection for quantitative dehydrogenase assays. *BMC Biochemistry*, 20(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12858-019-0108-1>

- Chan, L. L.-Y., Rice, W. L., ve Qiu, J. (2020). Observation and quantification of the morphological effect of trypan blue rupturing dead or dying cells. *PLOS ONE*, *15*(1), e0227950. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227950>
- Chang, Y.-T., Lai, Y.-C., Li, C.-T., Chen, C.-K., ve Yen, T.-J. (2010). A multi-functional plasmonic biosensor. *Optics Express*, *18*(9), 9561-9569. <https://doi.org/10.1364/OE.18.009561>
- Chen, C., ve Wang, J. (2020). Optical biosensors: an exhaustive and comprehensive review. *Analyst*, *145*(5), 1605-1628. <https://doi.org/10.1039/C9AN01998G>
- Chen, Y.-T., Lee, Y.-C., Lai, Y.-H., Lim, J.-C., Huang, N.-T., Lin, C.-T., ve Huang, J.-J. (2020). Review of Integrated Optical Biosensors for Point-of-Care Applications. *Biosensors*, *10*(12), 209. <https://doi.org/10.3390/bios10120209>
- Chiaravalli, J., ve Glickman, J. F. (2017). A High-Content Live-Cell Viability Assay and Its Validation on a Diverse 12K Compound Screen. *SLAS Discovery*, *22*(9), 1120-1130. <https://doi.org/10.1177/2472555217724745>
- Chuma, E. L., ve Rasmussen, T. (2022). Metamaterial-Based Sensor Integrating Microwave Dielectric and Near-Infrared Spectroscopy Techniques for Substance Evaluation. *IEEE Sensors Journal*, *22*(20), 19308-19314. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2022.3202708>
- Ciapetti, G., Cenni, E., Pratelli, L., ve Pizzoferrato, A. (1993). MTT testi ile hücre/biyomalzeme etkileşiminin in vitro değerlendirilmesi. *Biomaterials*, *14*(5), 359-364. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(93\)90055-7](https://doi.org/10.1016/0142-9612(93)90055-7)
- Clements, J. C., ve Comeau, L. A. (2019). Use of High-Frequency Noninvasive Electromagnetic Biosensors to Detect Ocean Acidification Effects on Shellfish Behavior. *Journal of Shellfish Research*, *38*(3), 811. <https://doi.org/10.2983/035.038.0330>
- Cole, S. P. C. (1986). Rapid chemosensitivity testing of human lung tumor cells using the MTT assay. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *17*(3), 259-263. <https://doi.org/10.1007/BF00256695>
- Collier, R. J., Skinner, A. D., ve Institution of Engineering and Technology (Ed.). (2007). *Microwave measurements* (Third edition). IET Training Course on Microwave Measurement, London. Institution of Engineering and Technology.
- Cosentino, M., Storelli, E., Luini, A., Rasini, E., Legnaro, M., Ferrari, M., ve Marino, F. (2020). *Trypan blue and Turk solution*. <https://www.protocols.io/view/trypan-blue-and-turk-solution-beegjbbw>
- Costa, L. C., Teixeira, S. S., ve Henry, F. (2024). Measuring microwave dielectric properties of materials: Theory and applications. *Materials Research Bulletin*, *179*, 112976. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2024.112976>
- Crouch, S. P., Kozlowski, R., Slater, K. J., ve Fletcher, J. (1993). The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity. *Journal of Immunological Methods*, *160*(1), 81-88. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(93\)90011-u](https://doi.org/10.1016/0022-1759(93)90011-u)
- Crowley, L. C., Marfell, B. J., Christensen, M. E., ve Waterhouse, N. J. (2016). Measuring Cell Death by Trypan Blue Uptake and Light Microscopy. *Cold Spring Harbor Protocols*, *2016*(7), pdb.prot087155. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot087155>

- Cui, Y., Lai, B., ve Tang, X. (2019). Microbial Fuel Cell-Based Biosensors. *Biosensors*, 9(3), 92. <https://doi.org/10.3390/bios9030092>
- Dadouche, N., Mezache, Z., Tao, J., Ali, E., Alsharef, M., Alwabli, A., Jaffar, A., Alzahrani, A., ve Berazguia, A. (2023). Design and Fabrication of a Novel Corona-Shaped Metamaterial Biosensor for Cancer Cell Detection. *Micromachines*, 14(11), 2114. <https://doi.org/10.3390/mi14112114>
- Dahlin, J. L., Close, D. A., Johnston, P. A., Haney, S. A., Titus, S. A., Wagner, B. K., ve Trask, O. J. (2004). Interference and Artifacts in High-content Screening. İçinde S. Markossian, A. Grossman, H. Baskir, M. Arkin, D. Auld, C. Austin, J. Baell, K. Brimacombe, T. D. Y. Chung, N. P. Coussens, J. L. Dahlin, V. Devanarayan, T. L. Foley, M. Glicksman, K. Gorshkov, S. Grotegut, M. D. Hall, S. Hoare, J. Inglese, ... X. Xu (Ed.), *Assay Guidance Manual*. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK615088/>
- Dalmay, C., Cheray, M., Pothier, A., Lalloué, F., Jauberteau, M. O., ve Blondy, P. (2010). Ultra sensitive biosensor based on impedance spectroscopy at microwave frequencies for cell scale analysis. *Sensors and Actuators A: Physical*, 162(2), 189-197. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2010.04.023>
- Damiani, E., Solorio, J. A., Doyle, A. P., ve Wallace, H. M. (2019). How reliable are *in vitro* IC50 values? Values vary with cytotoxicity assays in human glioblastoma cells. *Toxicology Letters*, 302, 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.12.004>
- Dash, S. K., ve Khuntia, S. R. (2011). *Fundamentals of electromagnetic theory* (2nd ed). PHI Learning.
- Demirkalp, A. N. C. (2025). Use and comparison of MTT, XTT and iCELLigence methods in the evaluation of drug toxicity. *Journal of Medicine and Palliative Care*, 6(1), 66-71. <https://doi.org/10.47582/jompac.1605042>
- Duran, T., ve Tuncer, Z. (2023). Investigation of Cytotoxic and Apoptotic Effects of *Styrax Liquidus* Obtained From *Liquidambar orientalis* Miller (Hamamelidaceae) on HEP-2 Cancer Cell with Caspase Pathway. *The Eurasian Journal of Medicine*, 55(3), 185-191. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2023.23130>
- Ebrahimi, A., Withayachumnankul, W., Al-Sarawi, S., ve Abbott, D. (2014). High-Sensitivity Metamaterial-Inspired Sensor for Microfluidic Dielectric Characterization. *IEEE Sensors Journal*, 14(5), 1345-1351. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2013.2295312>
- Ekrami, E., Pouresmaeli, M., Shariati, P., ve Mahmoudifard, M. (2021). A review on designing biosensors for the detection of trace metals. *Applied Geochemistry*, 127, 104902. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2021.104902>
- Elijah, J. P., ve Chukwuemeka, A. E. (2023). Cytotoxic Responses of Pancreatic Cancer Cell Line to Bitter Leaf (*Vernonia Amygdalina*), Tomato (*Solanum Lycopersicum*) and Coconut (*Cocos Nucifera*) Milk Extracts. *Journal of Tumor Science Research*, 1-4. [https://doi.org/10.47363/JTSR/2023\(2\)122](https://doi.org/10.47363/JTSR/2023(2)122)
- Emami Nejad, A., Najafgholian, S., Rostami, A., Sistani, A., Shojaeifar, S., Esparvarinha, M., Nedaeinia, R., Haghjooy Javanmard, S., Taherian, M., Ahmadlou, M., Salehi, R., Sadeghi, B., ve Manian, M. (2021). The role of hypoxia in the tumor microenvironment and development of cancer stem cell: a novel approach to

- developing treatment. *Cancer Cell International*, 21(1), 62. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01719-5>
- Eser, S., Örün, H., Hamavioğlu, E., ve Lofti, F. (2023). Cancer Incidence, Mortality and Survival in Türkiye as of 2020. *Basic & Clinical Cancer Research*. <https://doi.org/10.18502/bccr.v14i1.14383>
- Fan, J., Schiemer, T., Vaska, A., Jahed, V., ve Klavins, K. (2024). Cell via Cell Viability Assay Changes Cellular Metabolic Characteristics by Intervening with Glycolysis and Pentose Phosphate Pathway. *Chemical Research in Toxicology*, 37(2), 208-211. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.3c00339>
- Fan, P., Zhang, Y., Liu, L., Zhao, Z., Yin, Y., Xiao, X., Bauer, N., Gladkich, J., Mattern, J., Gao, C., Schemmer, P., Gross, W., ve Herr, I. (2016). Continuous exposure of pancreatic cancer cells to dietary bioactive agents does not induce drug resistance unlike chemotherapy. *Cell Death & Disease*, 7(6), e2246-e2246. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.157>
- Farmer, A., Friedli, A. C., Wright, S. M., ve Robertson, W. M. (2012). Biosensing using surface electromagnetic waves in photonic band gap multilayers. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 173, 79-84. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.06.015>
- Farrugia, J., Caruana, J., Farhat, I., Bonello, J., ve Sammut, C. (2025). Complementary split ring resonator sensors for dielectric characterization of liquids in biosensing applications. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 49, 100839. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2025.100839>
- Ferlay, Ervik, Lam, Laversanne, Colombet, Mery, Piñeros, Znaor, Soerjomataram, ve Bray. (2024). *GLOBOCAN 2020 population fact sheet*. International Agency for Research on Cancer. : <https://gco.iarc.who.int/today>
- Ferrari, M., Fornasiero, M. C., ve Isetta, A. M. (1990). MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro. *Journal of Immunological Methods*, 131(2), 165-172. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(90\)90187-Z](https://doi.org/10.1016/0022-1759(90)90187-Z)
- Fotakis, G., ve Timbrell, J. A. (2006). In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology Letters*, 160(2), 171-177. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.07.001>
- Freshney, I. (2001). Application of Cell Cultures to Toxicology. *Cell Biology and Toxicology*, 17(4), 213-230. <https://doi.org/10.1023/A:1012572930721>
- Fu, Y., Liu, T., Wang, H., Wang, Z., Hou, L., Jiang, J., ve Xu, T. (2024). Applications of nanomaterial technology in biosensing. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 9(2), 100694. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2024.100694>
- Fuentealba-Manosalva, O., Mansilla, M., Buelvas, N., Martin-Martin, A., Torres, C. G., ve López-Muñoz, R. A. (2023). Mind the Curve: Dose–Response Fitting Biases the Synergy Scores across Software Used for Chemotherapy Combination Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9705. <https://doi.org/10.3390/ijms24119705>
- Gabriel, C., Gabriel, S., ve Corthout, E. (1996). The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey. *Physics in Medicine and Biology*, 41(11), 2231-2249. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/41/11/001>

- Gabriel, C., ve Peyman, A. (2018). Dielectric Properties of Biological Tissues; Variation With Age. İçinde *Conn's Handbook of Models for Human Aging* (ss. 939-952). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811353-0.00069-5>
- Garrett, J., ve Fear, E. (2014). Stable and Flexible Materials to Mimic the Dielectric Properties of Human Soft Tissues. *IEEE Antennas and Wireless Propagation Letters*, 13, 599-602. <https://doi.org/10.1109/LAWP.2014.2312925>
- Gascoyne, P. R. C., ve Vykoukal, J. (2002). Particle separation by dielectrophoresis. *ELECTROPHORESIS*, 23(13), 1973. [https://doi.org/10.1002/1522-2683\(200207\)23:13%253C1973::AID-ELPS1973%253E3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/1522-2683(200207)23:13%253C1973::AID-ELPS1973%253E3.0.CO;2-1)
- Gavrilaş, S., Ursachi, C. Ştefan, Perţa-Crişan, S., ve Munteanu, F.-D. (2022). Recent Trends in Biosensors for Environmental Quality Monitoring. *Sensors*, 22(4), 1513. <https://doi.org/10.3390/s22041513>
- Geng, Z., Zhang, X., Fan, Z., Lv, X., ve Chen, H. (2017). A Route to Terahertz Metamaterial Biosensor Integrated with Microfluidics for Liver Cancer Biomarker Testing in Early Stage. *Scientific Reports*, 7(1), 16378. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16762-y>
- Ghasemi, M., Liang, S., Luu, Q. M., ve Kempson, I. (2023). The MTT Assay: A Method for Error Minimization and Interpretation in Measuring Cytotoxicity and Estimating Cell Viability. İçinde O. Friedrich ve D. F. Gilbert (Ed.), *Cell Viability Assays: Methods and Protocols* (ss. 15-33). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3052-5_2
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., ve Kempson, I. (2021). The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>
- Govind, G., ve Akhtar, M. J. (2019). Metamaterial-Inspired Microwave Microfluidic Sensor for Glucose Monitoring in Aqueous Solutions. *IEEE Sensors Journal*, 19(24), 11900-11907. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2019.2938853>
- Gradiz, R., Silva, H. C., Carvalho, L., Botelho, M. F., ve Mota-Pinto, A. (2016). MIA PaCa-2 and PANC-1 – pancreas ductal adenocarcinoma cell lines with neuroendocrine differentiation and somatostatin receptors. *Scientific Reports*, 6(1), 21648. <https://doi.org/10.1038/srep21648>
- Grela, E., Ząbek, A., ve Grabowiecka, A. (2015). Interferences in the Optimization of the MTT Assay for Viability Estimation of *Proteus mirabilis*. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 7(4), 159-167.
- Guertler, A., Kraemer, A., Roessler, U., Hornhardt, S., Kulka, U., Moertl, S., Friedl, A. A., Illig, T., Wichmann, E., ve Gomolka, M. (2011). The WST survival assay: an easy and reliable method to screen radiation-sensitive individuals. *Radiation Protection Dosimetry*, 143(2-4), 487-490. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncq515>
- Hamza, M. N., Islam, M. T., Lavadiya, S., Din, I. ud, Sanches, B., Koziel, S., ve Islam, M. S. (2025). Design and validation of ultra-compact metamaterial-based biosensor for non-invasive cervical cancer diagnosis in terahertz regime. *PLOS ONE*, 20(2), e0311431. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0311431>
- Hamza, M. N., Koziel, S., ve Pietrenko-Dabrowska, A. (2024). Design and experimental validation of a metamaterial-based sensor for microwave imaging in breast, lung,

- and brain cancer detection. *Scientific Reports*, *14*(1), 16177. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-67103-9>
- Hamza, M. N., Tariqul Islam, M., Lavadiya, S., Ud Din, I., Sanches, B., Koziel, S., Iffat Naqvi, S., Farmani, A., ve Islam, Md. S. (2025). Ultra-compact quintuple-band terahertz metamaterial biosensor for enhanced blood cancer diagnostics. *PLOS ONE*, *20*(1), e0313874. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0313874>
- Harsanyi, G. (2000). *Sensors in Biomedical Applications: Fundamentals, Technology and Applications* (0 bs). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420012910>
- Hassan, M. M., Sium, F. S., Islam, F., ve Choudhury, S. M. (2021). A review on plasmonic and metamaterial based biosensing platforms for virus detection. *Sensing and Bio-Sensing Research*, *33*, 100429. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2021.100429>
- Hassanpour, S., Baradaran, B., de la Guardia, M., Baghbanzadeh, A., Mosafer, J., Hejazi, M., Mokhtarzadeh, A., ve Hasanzadeh, M. (2018). Diagnosis of hepatitis via nanomaterial-based electrochemical, optical or piezoelectrical biosensors: a review on recent advancements. *Microchimica Acta*, *185*(12), 568. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-3088-8>
- Hoogstraten, C. A., Smeitink, J. A. M., Russel, F. G. M., ve Schirris, T. J. J. (2022). Dissecting Drug-Induced Cytotoxicity and Metabolic Dysfunction in Conditionally Immortalized Human Proximal Tubule Cells. *Frontiers in Toxicology*, *4*. <https://doi.org/10.3389/ftox.2022.842396>
- Horváth, S. (1980). Cytotoxicity of drugs and diverse chemical agents to cell cultures. *Toxicology*, *16*(1), 59-66. [https://doi.org/10.1016/0300-483X\(80\)90110-9](https://doi.org/10.1016/0300-483X(80)90110-9)
- Hossain, Md. B., Islam, Md. M., Abdulrazak, L. F., Rana, Md. M., Akib, T. B. A., ve Hassan, M. (2020). Graphene-Coated Optical Fiber SPR Biosensor for BRCA1 and BRCA2 Breast Cancer Biomarker Detection: a Numerical Design-Based Analysis. *Photonic Sensors*, *10*(1), 67-79. <https://doi.org/10.1007/s13320-019-0556-7>
- Hou, L., Huang, Y., Hou, W., Yan, Y., Liu, J., ve Xia, N. (2020). Modification-free amperometric biosensor for the detection of wild-type p53 protein based on the *in situ* formation of silver nanoparticle networks for signal amplification. *International Journal of Biological Macromolecules*, *158*, 580-586. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.271>
- Hua, Y., Ma, J., Li, D., ve Wang, R. (2022). DNA-Based Biosensors for the Biochemical Analysis: A Review. *Biosensors*, *12*(3), 183. <https://doi.org/10.3390/bios12030183>
- Huang, C.-W., Lin, C., Nguyen, M. K., Hussain, A., Bui, X.-T., ve Ngo, H. H. (2023). A review of biosensor for environmental monitoring: principle, application, and corresponding achievement of sustainable development goals. *Bioengineered*, *14*(1), 58-80. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2095089>
- Huang, P., Xu, L., ve Xie, Y. (2021). Biomedical Applications of Electromagnetic Detection: A Brief Review. *Biosensors*, *11*(7), 225. <https://doi.org/10.3390/bios11070225>
- Hwang, J., Choi, Y., Lee, K., Krishnan, V., Pelled, G., Gilad, A. A., ve Choi, J. (2020). Regulation of Electromagnetic Perceptive Gene Using Ferromagnetic Particles for the External Control of Calcium Ion Transport. *Biomolecules*, *10*(2), 308. <https://doi.org/10.3390/biom10020308>

- Imashiro, C., Tokuoka, Y., Kikuhara, K., Yamada, T. G., Takemura, K., ve Funahashi, A. (2020). Direct Cell Counting Using Macro-Scale Smartphone Images of Cell Aggregates. *IEEE Access*, 8, 170033-170043. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.3024100>
- Islam, M., Mezencev, R., McFarland, B., Brink, H., Campbell, B., Tasadduq, B., Waller, E. K., Lam, W., Alexeev, A., ve Sulchek, T. (2018). Microfluidic cell sorting by stiffness to examine heterogenic responses of cancer cells to chemotherapy. *Cell Death & Disease*, 9(2), 239. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0266-x>
- Jagadeesan, V., Venkatachalam, D., Vinod, V. M., Loganathan, A. K., Muthusamy, S., Krishnamoorthy, M., Sadasivuni, K. K., ve Geetha, M. (2023). Design and development of a new metamaterial sensor-based Minkowski fractal antenna for medical imaging. *Applied Physics A*, 129(5), 391. <https://doi.org/10.1007/s00339-023-06648-4>
- Jensen, E. C. (2013). Overview of Live-Cell Imaging: Requirements and Methods Used. *The Anatomical Record*, 296(1), 1-8. <https://doi.org/10.1002/ar.22554>
- Jha, S. N., Narsaiah, K., Basediya, A. L., Sharma, R., Jaiswal, P., Kumar, R., ve Bhardwaj, R. (2011). Measurement techniques and application of electrical properties for nondestructive quality evaluation of foods—a review. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 387-411. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0263-x>
- Jilani, M. T., Rehman, M. Z. ur, Khan, A. M., Khan, M. T., ve Ali, S. M. (2012). A Brief Review of Measuring Techniques for Characterization of Dielectric Materials. *International Journal of Information Technology and Electrical Engineering*, 1(1).
- Kamiloglu, S., Sari, G., Ozdal, T., ve Capanoglu, E. (2020). Guidelines for cell viability assays. *Food Frontiers*, 1(3), 332-349. <https://doi.org/10.1002/fft2.44>
- Karimi, E., Nikkhah, M., ve Hosseinkhani, S. (2022). Label-Free and Bioluminescence-Based Nano-Biosensor for ATP Detection. *Biosensors*, 12(11), 918. <https://doi.org/10.3390/bios12110918>
- Kawabe, S., ve Uchiho, Y. (2020). Development of a highly sensitive microplate luminometer using ATP bioluminescence. *Luminescence*, 35(8), 1195-1198. <https://doi.org/10.1002/bio.3828>
- Kazemi, N., Schofield, K., ve Musilek, P. (2021). A High-Resolution Reflective Microwave Planar Sensor for Sensing of Vanadium Electrolyte. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 21(11), 3759. <https://doi.org/10.3390/s21113759>
- Kessel, D. (2025). Pitfalls and other issues with the MTT assay. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 54, 104700. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2025.104700>
- Keysight Technologies. (2017). *Keysight 85070E Dielectric Probe Kit Technical Overview*. Keysight Technologies.
- Khalil, M. A., Yong, W. H., Batool, T., Hoque, A., Chiong, L. Y., Goh, H. H., Kurniawan, T. A., Soliman, M. S., ve Islam, M. T. (2025). Highly sensitive split ring resonator-based sensor for quality monitoring of edible oils. *Scientific Reports*, 15(1), 2283. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-85800-x>
- Khodaie, A., ve Heidarzadeh, H. (2024). Design and analysis of a multi-modal refractive index plasmonic biosensor based on split ring resonator for detection of the various

- cancer cells. *Optical and Quantum Electronics*, 56(9), 1439. <https://doi.org/10.1007/s11082-024-07381-9>
- Kim, D. M., Park, J. S., Jung, S.-W., Yeom, J., ve Yoo, S. M. (2021). Biosensing Applications Using Nanostructure-Based Localized Surface Plasmon Resonance Sensors. *Sensors*, 21(9), 3191. <https://doi.org/10.3390/s21093191>
- Kim, J., Campbell, A. S., de Ávila, B. E.-F., ve Wang, J. (2019). Wearable biosensors for healthcare monitoring. *Nature Biotechnology*, 37(4), 389-406. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0045-y>
- Kim, J. S., Nam, M. H., An, S. S. A., Lim, C. S., Hur, D. S., Chung, C., ve Chang, J. K. (2011). Comparison of the automated fluorescence microscopic viability test with the conventional and flow cytometry methods. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 25(2), 90-94. <https://doi.org/10.1002/jcla.20438>
- Kim, S.-K., Jang, S. D., Kim, H., Chung, S., Park, J. K., ve Kuh, H.-J. (2020). Phenotypic Heterogeneity and Plasticity of Cancer Cell Migration in a Pancreatic Tumor Three-Dimensional Culture Model. *Cancers*, 12(5), 1305. <https://doi.org/10.3390/cancers12051305>
- Kim, Y., Han, D., Min, H., Jin, J., Yi, E. C., ve Kim, Y. (2014). Comparative proteomic profiling of pancreatic ductal adenocarcinoma cell lines. *Molecules and Cells*, 37(12), 888-898. <https://doi.org/10.14348/molcells.2014.0207>
- Koyanagi, M., Kawakabe, S., ve Arimura, Y. (2016). A comparative study of colorimetric cell proliferation assays in immune cells. *Cytotechnology*, 68(4), 1489-1498. <https://doi.org/10.1007/s10616-015-9909-2>
- Kumar, P., Nagarajan, A., ve Uchil, P. D. (2018). Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(6), pdb.prot095505. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095505>
- Kuo, Y.-C., Kou, H.-W., Hsu, C.-P., Lo, C.-H., ve Hwang, T.-L. (2023). Identification and Clinical Significance of Pancreatic Cancer Stem Cells and Their Chemotherapeutic Drug Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7331. <https://doi.org/10.3390/ijms24087331>
- Larsson, P., Engqvist, H., Biermann, J., Werner Rönnerman, E., Forssell-Aronsson, E., Kovács, A., Karlsson, P., Helou, K., ve Parris, T. Z. (2020). Optimization of cell viability assays to improve replicability and reproducibility of cancer drug sensitivity screens. *Scientific Reports*, 10(1), 5798. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62848-5>
- Lavogina, D., Lust, H., Tahk, M.-J., Laasfeld, T., Vellama, H., Nasirova, N., Vardja, M., Eskla, K.-L., Salumets, A., Rincken, A., ve Jaal, J. (2022). Revisiting the Resazurin-Based Sensing of Cellular Viability: Widening the Application Horizon. *Biosensors*, 12(4), 196. <https://doi.org/10.3390/bios12040196>
- Lazebnik, M., McCartney, L., Popovic, D., Watkins, C. B., Lindstrom, M. J., Harter, J., Sewall, S., Magliocco, A., Booske, J. H., Okoniewski, M., ve Hagness, S. C. (2007). A large-scale study of the ultrawideband microwave dielectric properties of normal breast tissue obtained from reduction surgeries. *Physics in Medicine and Biology*, 52(10), 2637-2656. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/52/10/001>
- Le Berre, T., Marchalot, J., Frénéa-Robin, M., Cros, J., Prat, F., ve Rival, G. (2025). Measurement and comparison of dielectric properties of human pancreatic tumours,

- healthy tissues and porcine tissues *ex vivo* between 1Hz and 1MHz. *Bioelectrochemistry*, *161*, 108821. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2024.108821>
- Lee, H.-J., Lee, J.-H., Moon, H.-S., Jang, I.-S., Choi, J.-S., Yook, J.-G., ve Jung, H.-I. (2012). A planar split-ring resonator-based microwave biosensor for label-free detection of biomolecules. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *169*, 26-31. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.01.044>
- Lee, J. H., Lee, H.-B., Jung, G. O., Oh, J. T., Park, D. E., ve Chae, K. M. (2013). Effect of quercetin on apoptosis of PANC-1 cells. *Journal of the Korean Surgical Society*, *85*(6), 249-260. <https://doi.org/10.4174/jkss.2013.85.6.249>
- Lee, J.-H., Kim, Y.-G., Park, I., ve Lee, J. (2024). Antifungal and antibiofilm activities of flavonoids against *Candida albicans*: Focus on 3,2'-dihydroxyflavone as a potential therapeutic agent. *Biofilm*, *8*, 100218. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2024.100218>
- Li, X., Szewczuk, M. R., ve Malardier-Jugroot, C. (2016). Folic acid-conjugated amphiphilic alternating copolymer as a new active tumor targeting drug delivery platform. *Drug Design, Development and Therapy*, *10*, 4101-4110. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S123386>
- Lieber, M., Mazzetta, J., Nelson-Rees, W., Kaplan, M., ve Todaro, G. (1975). Establishment of a continuous tumor-cell line (PANC-1) from a human carcinoma of the exocrine pancreas. *International Journal of Cancer*, *15*(5), 741-747. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910150505>
- Lindhagen, E., Nygren, P., ve Larsson, R. (2008). The fluorometric microculture cytotoxicity assay. *Nature Protocols*, *3*(8), 1364-1369. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.114>
- Liu, F., Gore, A. J., Wilson, J. L., ve Korc, M. (2014). DUSP1 Is a Novel Target for Enhancing Pancreatic Cancer Cell Sensitivity to Gemcitabine. *PLoS ONE*, *9*(1), e84982. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084982>
- Liu, Y., Wang, Y., Wu, C., Wan, G., ve Yashchyshyn, Y. (2025). Self-Calibration Technique and Permittivity Measurement Using a Slotted Rectangular Waveguide. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, *73*(1), 582-591. <https://doi.org/10.1109/TMTT.2024.3419799>
- Liu, Z., Xu, W., Han, J., Liu, Q., Gao, L., Wang, X., ve Li, X. (2020). Quercetin induces apoptosis and enhances gemcitabine therapeutic efficacy against gemcitabine-resistant cancer cells. *Anti-Cancer Drugs*, *31*(7), 684. <https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000000933>
- Lou, H., ve Loh, Y. P. (2022). Silencing of Carboxypeptidase E expression inhibits proliferation and invasion of Panc-1 pancreatic cancer cells. *F1000Research*, *10*, 489. <https://doi.org/10.12688/f1000research.53737.2>
- Loures, F. V., ve Levitz, S. M. (2015). XTT Assay of Antifungal Activity. *Bio-Protocol*, *5*(15). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1543>
- Lu, K., Qi, J., Gu, M., Zhu, J., Li, C., Fang, B., Hong, Z., Tian, Y., ve Jing, X. (2025). Microfluidic Biosensors Based on Dual-Layer Metasurfaces. *IEEE Sensors Journal*, *25*(1), 419-425. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2024.3496747>

- Lutter, A.-H., Scholka, J., Richter, H., ve Anderer, U. (2017). Applying XTT, WST-1, and WST-8 to human chondrocytes: A comparison of membrane-impermeable tetrazolium salts in 2D and 3D cultures. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 67(3-4), 327-342. <https://doi.org/10.3233/CH-179213>
- Lyles, R. H., Poindexter, C., Evans, A., Brown, M., ve Cooper, C. R. (2008). Nonlinear model-based estimates of IC50 for studies involving continuous therapeutic dose–response data. *Contemporary Clinical Trials*, 29(6), 878-886. <https://doi.org/10.1016/j.cct.2008.05.009>
- Madorran, E., Ambrož, M., Knez, J., ve Sobočan, M. (2024). An Overview of the Current State of Cell Viability Assessment Methods Using OECD Classification. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(1), 220. <https://doi.org/10.3390/ijms26010220>
- Mani, S., ve Swargiary, G. (2023). In Vitro Cytotoxicity Analysis: MTT/XTT, Trypan Blue Exclusion. İçinde S. Mani, M. Singh, ve A. Kumar (Ed.), *Animal Cell Culture: Principles and Practice* (ss. 267-284). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-19485-6_18
- Martin, F., Neubert, A., Lutter, A.-H., Scholka, J., Hentschel, E., Richter, H., ve Anderer, U. (2024). MTS, WST-8, and ATP viability assays in 2D and 3D cultures: Comparison of methodologically different assays in primary human chondrocytes. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 88(s1), S3-S19. <https://doi.org/10.3233/CH-248101>
- Mazlumoğlu, B. Ş. (2023). IN VITRO CYTOTOXICITY TEST METHODS: MTT and NRU. *International Journal of PharmATA*, 3(2), 50-53. <https://doi.org/10.5152/Pharmata.2023.1287964>
- Mehrotra, P., Chatterjee, B., ve Sen, S. (2019). EM-Wave Biosensors: A Review of RF, Microwave, mm-Wave and Optical Sensing. *Sensors*, 19(5), 1013. <https://doi.org/10.3390/s19051013>
- Meshulam, T., Levitz, S. M., Christin, L., ve Diamond, R. D. (1995). A Simplified New Assay for Assessment of Fungal Cell Damage with the Tetrazolium Dye, (2,3)-bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulphenyl)-(2H)-Tetrazolium-5-Carboxanilide (XTT). *The Journal of Infectious Diseases*, 172(4), 1153-1156. <https://doi.org/10.1093/infdis/172.4.1153>
- Mia, A. K., Meyyappan, M., ve Giri, P. K. (2023). Two-Dimensional Transition Metal Dichalcogenide Based Biosensors: From Fundamentals to Healthcare Applications. *Biosensors*, 13(2), 169. <https://doi.org/10.3390/bios13020169>
- Mirabelli, P., Coppola, L., ve Salvatore, M. (2019). Cancer Cell Lines Are Useful Model Systems for Medical Research. *Cancers*, 11(8), 1098. <https://doi.org/10.3390/cancers11081098>
- Mizrahi, J. D., Surana, R., Valle, J. W., ve Shroff, R. T. (2020). Pancreatic cancer. *The Lancet*, 395(10242), 2008-2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30974-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30974-0)
- Moldogazieva, N. T., Mokhosoev, I. M., ve Terentiev, A. A. (2020). Metabolic Heterogeneity of Cancer Cells: An Interplay between HIF-1, GLUTs, and AMPK. *Cancers*, 12(4), 862. <https://doi.org/10.3390/cancers12040862>
- Morciano, G., Sarti, A. C., Marchi, S., Missiroli, S., Falzoni, S., Raffaghello, L., Pistoia, V., Giorgi, C., Di Virgilio, F., ve Pinton, P. (2017). Use of luciferase probes to

- measure ATP in living cells and animals. *Nature Protocols*, 12(8), 1542-1562. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.052>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Mostufa, S., Rezaei, B., Ciannella, S., Yari, P., Gómez-Pastora, J., He, R., ve Wu, K. (2024). Advancements and Perspectives in Optical Biosensors. *ACS Omega*, 9(23), 24181-24202. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c01872>
- Munalli, D., Qaseer, M. T. A., ve Zoughi, R. (2022). Modified Waveguide-Based Method for Microwave Characterization of High-Loss Materials. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 71, 1-10. <https://doi.org/10.1109/TIM.2022.3156986>
- Muñoz-Enano, J., Vélez, P., Gil, M., ve Martín, F. (2020). Planar Microwave Resonant Sensors: A Review and Recent Developments. *Applied Sciences*, 10(7), 2615. <https://doi.org/10.3390/app10072615>
- Nanda, B. P., Rani, P., Paul, P., Aman, Ganti, S. S., ve Bhatia, R. (2024). Recent trends and impact of localized surface plasmon resonance (LSPR) and surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) in modern analysis. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 14(11), 100959. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2024.02.013>
- Nashebi, R., Sari, M., ve Kotil, S. E. (2024). Mathematical modelling of antibiotic interaction on evolution of antibiotic resistance: an analytical approach. *PeerJ*, 12, e16917. <https://doi.org/10.7717/peerj.16917>
- Navaei, M., Rezaei, P., ve Kiani, S. (2022). Microwave Split Ring Resonator Sensor for Determination of the Fluids Permittivity With Measurement of Human Milk Samples. *Radio Science*, 57(7), e2022RS007435. <https://doi.org/10.1029/2022RS007435>
- Nedjmeddine, M., Moulfi, B., ve Abdelmalek, R. (2025). Coplanar Biosensor Utilizing CSRR and SRR Metamaterial for Improved Breast Cancer Detection. *Plasmonics*, 20(10), 8835-8847. <https://doi.org/10.1007/s11468-025-02943-3>
- Nelson, S. O., ve Kraszewski, A. W. (1990). Dielectric Properties of Materials and Measurement Techniques. *Drying Technology*, 8(5), 1123-1142. <https://doi.org/10.1080/07373939008959939>
- Nowak, E., Kammerer, S., ve Küpper, J. (2018). ATP-based cell viability assay is superior to trypan blue exclusion and XTT assay in measuring cytotoxicity of anticancer drugs Taxol and Imatinib, and proteasome inhibitor MG-132 on human hepatoma cell line HepG2. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 69, 327-336. <https://doi.org/10.3233/CH-189120>
- O'Loughlin, D., O'Halloran, M., Moloney, B. M., Glavin, M., Jones, E., ve Elahi, M. A. (2018). Microwave Breast Imaging: Clinical Advances and Remaining Challenges. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 65(11), 2580-2590. <https://doi.org/10.1109/TBME.2018.2809541>
- Oner, E., Gray, S. G., ve Finn, S. P. (2023). Cell Viability Assay with 3D Prostate Tumor Spheroids. İçinde D. Movia ve A. Prina-Mello (Ed.), *Cancer Cell Culture: Methods and Protocols* (ss. 263-275). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3056-3_17

- O'Rourke, A. P., Lazebnik, M., Bertram, J. M., Converse, M. C., Hagness, S. C., Webster, J. G., ve Mahvi, D. M. (2007). Dielectric properties of human normal, malignant and cirrhotic liver tissue: in vivo and ex vivo measurements from 0.5 to 20 GHz using a precision open-ended coaxial probe. *Physics in Medicine and Biology*, 52(15), 4707-4719. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/52/15/022>
- Patel, S. K., Parmar, J., Sorathiya, V., Nguyen, T. K., ve Dhasarathan, V. (2021). Tunable infrared metamaterial-based biosensor for detection of hemoglobin and urine using phase change material. *Scientific Reports*, 11(1), 7101. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86700-6>
- Pendry, J. B., Holden, A. J., Robbins, D. J., ve Stewart, W. J. (1999). Magnetism from conductors and enhanced nonlinear phenomena. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 47(11), 2075-2084. <https://doi.org/10.1109/22.798002>
- Pethig, R. (1984). Dielectric Properties of Biological Materials: Biophysical and Medical Applications. *IEEE Transactions on Electrical Insulation*, EI-19(5), 453-474. <https://doi.org/10.1109/TEI.1984.298769>
- Pethig, R. (1987). Dielectric properties of body tissues. *Clinical Physics and Physiological Measurement*, 8(4A), 5-12. <https://doi.org/10.1088/0143-0815/8/4A/002>
- Petiti, J., Caria, S., Revel, L., Pegoraro, M., ve Divieto, C. (2024). Standardized Protocol for Resazurin-Based Viability Assays on A549 Cell Line for Improving Cytotoxicity Data Reliability. *Cells*, 13(23), 1959. <https://doi.org/10.3390/cells13231959>
- Petiti, J., Revel, L., ve Divieto, C. (2024). Standard Operating Procedure to Optimize Resazurin-Based Viability Assays. *Biosensors*, 14(4), 156. <https://doi.org/10.3390/bios14040156>
- Piccinini, F., Tesei, A., Arienti, C., ve Bevilacqua, A. (2017). Cell Counting and Viability Assessment of 2D and 3D Cell Cultures: Expected Reliability of the Trypan Blue Assay. *Biological Procedures Online*, 19(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s12575-017-0056-3>
- Pohanka, M. (2018). Overview of Piezoelectric Biosensors, Immunosensors and DNA Sensors and Their Applications. *Materials*, 11(3), 448. <https://doi.org/10.3390/ma11030448>
- Posimo, J. M., Unnithan, A. S., Gleixner, A. M., Choi, H. J., Jiang, Y., Pulugulla, S. H., ve Leak, R. K. (2014). Viability Assays for Cells in Culture. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 83, 50645. <https://doi.org/10.3791/50645>
- Pozar, D. M. (2012). *Microwave engineering* (Fourth edition). John Wiley & Sons, Inc.
- Präbst, K., Engelhardt, H., Ringgeler, S., ve Hübner, H. (2017). Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin. İçinde D. F. Gilbert ve O. Friedrich (Ed.), *Cell Viability Assays: Methods and Protocols* (ss. 1-17). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6960-9_1
- Qureshi, S. A., Abidin, Z. Z., Elamin, N. I. M., Majid, H. A., Ashyap, A. Y. I., Nebhen, J., Kamarudin, M. R., See, C. H., ve Abd-Alhameed, R. A. (2022). Glucose level detection using millimetre-wave metamaterial-inspired resonator. *PLOS ONE*, 17(6), e0269060. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269060>

- Ramage, G., Vande Walle, K., Wickes, B. L., ve López-Ribot, J. L. (2001). Standardized Method for In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of *Candida albicans* Biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(9), 2475-2479. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.9.2475-2479.2001>
- Ramasamy, S., ve Pakshirajan, K. (2022). 15 - Product evaluation: cytotoxicity assays. İçinde P. V. Mohanan (Ed.), *Biomedical Product and Materials Evaluation* (ss. 373-408). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823966-7.00024-4>
- Ramesh, M., Janani, R., Deepa, C., ve Rajeshkumar, L. (2023). Nanotechnology-Enabled Biosensors: A Review of Fundamentals, Design Principles, Materials, and Applications. *Biosensors*, 13(1), 40. <https://doi.org/10.3390/bios13010040>
- Rampersad, S. N. (2012a). Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 12(9), 12347-12360. <https://doi.org/10.3390/s120912347>
- Rampersad, S. N. (2012b). Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 12(9), 12347-12360. <https://doi.org/10.3390/s120912347>
- Ratner, B. (2009). The correlation coefficient: Its values range between +1/-1, or do they? *Journal of Targeting, Measurement and Analysis for Marketing*, 17(2), 139-142. <https://doi.org/10.1057/jt.2009.5>
- Richter, M., Piwocka, O., Musielak, M., Piotrowski, I., Suchorska, W. M., ve Trzeciak, T. (2021). From Donor to the Lab: A Fascinating Journey of Primary Cell Lines. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.711381>
- Riss, T. L., Moravec, R. A., ve Niles, A. L. (2011). Cytotoxicity Testing: Measuring Viable Cells, Dead Cells, and Detecting Mechanism of Cell Death. İçinde M. J. Stoddart (Ed.), *Mammalian Cell Viability: Methods and Protocols* (ss. 103-114). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-108-6_12
- Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., ve Minor, L. (2004). Cell Viability Assays. İçinde S. Markossian, A. Grossman, H. Baskir, M. Arkin, D. Auld, C. Austin, J. Baell, K. Brimacombe, T. D. Y. Chung, N. P. Coussens, J. L. Dahlin, V. Devanarayan, T. L. Foley, M. Glicksman, K. Gorshkov, S. Grotegut, M. D. Hall, S. Hoare, J. Inglese, ... X. Xu (Ed.), *Assay Guidance Manual*. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>
- Rochigneux, P., Garcia, A. J., Chanez, B., Madroszyk, A., Olive, D., ve Garon, E. B. (2020). Medical Treatment of Lung Cancer: Can Immune Cells Predict the Response? A Systematic Review. *Frontiers in Immunology*, 11, 1036. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01036>
- Rohde&Schwarz. (2017). *R&S ZVA Vector Network Analyzer*. Rohde&Schwarz.
- Salim, A., ve Lim, S. (2016). Complementary Split-Ring Resonator-Loaded Microfluidic Ethanol Chemical Sensor. *Sensors*, 16(11), 1802. <https://doi.org/10.3390/s16111802>

- Sargent, J. M. (2003). The Use of the MTT Assay to Study Drug Resistance in Fresh Tumour Samples. İçinde U. Reinhold ve W. Tilgen (Ed.), *Chemosensitivity Testing in Oncology* (ss. 13-25). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-19022-3_2
- Sargent, J., ve Taylor, C. (1989). Appraisal of the MTT assay as a rapid test of chemosensitivity in acute myeloid leukaemia. *British Journal of Cancer*, *60*(2), 206-210. <https://doi.org/10.1038/bjc.1989.252>
- Sarkar, S., Hazra, S., Patra, S., ve Gogoi, M. (2024). Biosensors for cancer detection: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *180*, 117978. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117978>
- Sasaki, K., Porter, E., Rashed, E. A., Farrugia, L., ve Schmid, G. (2022). Measurement and image-based estimation of dielectric properties of biological tissues —past, present, and future—. *Physics in Medicine & Biology*, *67*(14), 14TR01. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/ac7b64>
- Sazonova, E. V., Chesnokov, M. S., Zhivotovsky, B., ve Kopeina, G. S. (2022). Drug toxicity assessment: cell proliferation versus cell death. *Cell Death Discovery*, *8*(1), 417. <https://doi.org/10.1038/s41420-022-01207-x>
- Secme, A., Tefek, U., Sari, B., Pisheh, H. S., Uslu, H. D., Çalışkan, Ö. A., Kucukoglu, B., Erdogan, R. T., Alhmoud, H., Sahin, O., ve Hanay, M. S. (2023). High-Resolution Dielectric Characterization of Single Cells and Microparticles Using Integrated Microfluidic Microwave Sensors. *IEEE Sensors Journal*, *23*(7), 6517-6529. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2023.3250401>
- Serain, A. F., de Souza, D. R., ve Viviani, V. R. (2025). Fast and Sensitive Swab-Based Bioluminescent Detection Method for Meat and Chicken Microbiological Contamination Using *Amydetes vivianii* Firefly Luciferase. *Chemosensors*, *13*(2), 27. <https://doi.org/10.3390/chemosensors13020027>
- Shamim, S., Mohsin, A. S. M., Rahman, M. M., ve Bhuian, M. B. H. (2024). Recent advances in the metamaterial and metasurface-based biosensor in the gigahertz, terahertz, and optical frequency domains. *Heliyon*, *10*(13). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33272>
- Shi, Y., Bai, X., Yang, J., Wu, X., ve Wang, L. (2025). Optimized measurement methods and systems for the dielectric properties of active biological tissues in the 10Hz-100 MHz frequency range. *Frontiers in Physiology*, *16*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1537537>
- Shokrzadeh, M., ve Modanloo, M. (2017). An overview of the most common methods for assessing cell viability. *Journal of Research in Medical and Dental Science*, *5*(2), 33. <https://doi.org/10.5455/jrmds.2017526>
- Sim, M. S., You, K. Y., Dewan, R., Esa, F., Salim, M. R., Khe, C. S., Kew, S. Y. N., ve Hamid, F. (2024). Microwave sensors loaded with metamaterial-inspired resonators for dielectric material characterization: A review. *Sensors and Actuators A: Physical*, *372*, 115322. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2024.115322>
- Singh, B., Smith, C. W., ve Hughes, R. (1979). In vivo dielectric spectrometer. *Medical & Biological Engineering & Computing*, *17*(1), 45-60. <https://doi.org/10.1007/BF02440953>
- Singh, S., Kumar, V., Dhanjal, D. S., Datta, S., Prasad, R., ve Singh, J. (2020). Biological Biosensors for Monitoring and Diagnosis. İçinde J. Singh, A. Vyas, S. Wang, ve R.

- Prasad (Ed.), *Microbial Biotechnology: Basic Research and Applications* (ss. 317-335). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2817-0_14
- Skaraitė, I., Maccioni, E., ve Petrikaitė, V. (2023). Anticancer Activity of Sunitinib Analogues in Human Pancreatic Cancer Cell Cultures under Normoxia and Hypoxia. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5422. <https://doi.org/10.3390/ijms24065422>
- Someda, C. G. (2017). *Electromagnetic Waves* (2. bs). CRC Press. <https://doi.org/10.4324/9781420009545>
- Sphicopoulos, T., Teodoridis, V., ve Gardiol, F. E. (1985). *Simple nondestructive method for the measurement of material permittivity*. 20, 165-172. <https://doi.org/10.1080/16070658.1985.11720300>
- Sreekanth, K. V., Ouyang, Q., Sreejith, S., Zeng, S., Lishu, W., Ilker, E., Dong, W., ElKabbash, M., Ting, Y., Lim, C. T., Hinczewski, M., Strangi, G., Yong, K.-T., Simpson, R. E., ve Singh, R. (2019). Phase-Change-Material-Based Low-Loss Visible-Frequency Hyperbolic Metamaterials for Ultrasensitive Label-Free Biosensing. *Advanced Optical Materials*, 7(12), 1900081. <https://doi.org/10.1002/adom.201900081>
- Stockert, J. C., Blázquez-Castro, A., Cañete, M., Horobin, R. W., ve Villanueva, Á. (2012). MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. *Acta Histochemica*, 114(8), 785-796. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2012.01.006>
- Strober, W. (1997). Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Current Protocols in Immunology*, 21(1), A.3B.1-A.3B.2. <https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03bs21>
- Strober, W. (2015). Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Current Protocols in Immunology*, 111, A3.B.1-A3.B.3. <https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03bs111>
- Sun, C., Huang, H., Wang, J., Liu, W., Yang, Z., ve Yu, X.-F. (2022). Applications of electrochemical biosensors based on 2D materials and their hybrid composites in hematological malignancies diagnosis. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 21, 15330338221142996. <https://doi.org/10.1177/15330338221142996>
- Sun, Y., Day, R. N., ve Periasamy, A. (2011). Investigating protein-protein interactions in living cells using fluorescence lifetime imaging microscopy. *Nature Protocols*, 6(9), 1324-1340. <https://doi.org/10.1038/nprot.2011.364>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., ve Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Sylvester, P. W. (2011). Optimization of the Tetrazolium Dye (MTT) Colorimetric Assay for Cellular Growth and Viability. İçinde S. D. Satyanarayanajois (Ed.), *Drug Design and Discovery: Methods and Protocols* (ss. 157-168). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-012-6_9
- Takata, T., Ueda, T., Sakasai-Sakai, A., ve Takeuchi, M. (2017). Generation of glyceraldehyde-derived advanced glycation end-products in pancreatic cancer cells

- and the potential of tumor promotion. *World Journal of Gastroenterology*, 23(27), 4910-4919. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i27.4910>
- Tan, M. H., Nowak, N. J., Loor, R., Ochi, H., Sandberg, A. A., Lopez, C., Pickren, J. W., Berjian, R., Douglass, H. O., ve Chu, T. M. (1986). Characterization of a New Primary Human Pancreatic Tumor Line. *Cancer Investigation*, 4(1), 15-23. <https://doi.org/10.3109/07357908609039823>
- Tennant, J. R. (1964). EVALUATION OF THE TRYPAN BLUE TECHNIQUE FOR DETERMINATION OF CELL VIABILITY. *Transplantation*, 2, 685-694. <https://doi.org/10.1097/00007890-196411000-00001>
- Tereshchenko, O. V., Buesink, F. J. K., ve Leferink, F. B. J. (2011). An overview of the techniques for measuring the dielectric properties of materials. *2011 XXXth URSI General Assembly and Scientific Symposium*, 1-4. <https://doi.org/10.1109/URSIGASS.2011.6050287>
- Tong, Y., Gao, W.-Q., ve Liu, Y. (2020). Metabolic heterogeneity in cancer: An overview and therapeutic implications. *Biochimica Et Biophysica Acta. Reviews on Cancer*, 1874(2), 188421. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188421>
- Tozduman, B., ve Ergor, G. (2025). The fraction of cancer attributable to modifiable risk factors in Turkey in 2018. *International Journal of Cancer*, 156(11), 2140-2147. <https://doi.org/10.1002/ijc.35317>
- Turner, A. P. F. (2013). Biosensors: sense and sensibility. *Chemical Society Reviews*, 42(8), 3184. <https://doi.org/10.1039/c3cs35528d>
- Twentyman, P. R., ve Luscombe, M. (1987). A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. *British Journal of Cancer*, 56(3), 279-285. <https://doi.org/10.1038/bjc.1987.190>
- van Meerloo, J., Kaspers, G. J. L., ve Cloos, J. (2011). Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. İçinde I. A. Cree (Ed.), *Cancer Cell Culture: Methods and Protocols* (ss. 237-245). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-080-5_20
- Van Tonder, A., Joubert, A. M., ve Cromarty, A. D. (2015). Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. *BMC Research Notes*, 8(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1000-8>
- Venkatesh, M. S., ve Raghavan, G. S. V. (2005). An overview of dielectric properties measuring techniques. *The Journal of The Canadian Society for Bioengineering*, 47(7), 15-30.
- Veselago, V. G. (1968). THE ELECTRODYNAMICS OF SUBSTANCES WITH SIMULTANEOUSLY NEGATIVE VALUES OF ϵ AND μ . *Soviet Physics Uspekhi*, 10(4), 509-514. <https://doi.org/10.1070/PU1968v010n04ABEH003699>
- Wang, J., Wang, R., Shen, Z., Liu, B., Sun, C., ve Xue, Q. (2024). Microwave biosensors utilizing metamaterial enhancement: Design and application. *Nanotechnology and Precision Engineering*, 8(1), 015001. <https://doi.org/10.1063/10.0028757>
- Wang, P., Henning, S. M., ve Heber, D. (2010). Limitations of MTT and MTS-Based Assays for Measurement of Antiproliferative Activity of Green Tea Polyphenols. *PLOS ONE*, 5(4), e10202. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010202>

- Wang, S., Yu, H., ve Wickliffe, J. K. (2011). Limitation of the MTT and XTT assays for measuring cell viability due to superoxide formation induced by nano-scale TiO₂. *Toxicology in Vitro*, 25(8), 2147-2151. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.07.007>
- Weir, C., Li, J., Fulton, R., ve Fernando, S. L. (2022). Development and initial validation of a modified lymphocyte transformation test (LTT) assay in patients with DRESS and AGEF. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 18(1), 90. <https://doi.org/10.1186/s13223-022-00729-4>
- Weyermann, J., Lochmann, D., ve Zimmer, A. (2005). A practical note on the use of cytotoxicity assays. *International Journal of Pharmaceutics*, 288(2), 369-376. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.09.018>
- Wilson, J., Sargent, J., Elgie, A., Hill, J., ve Taylor, C. (1990). A feasibility study of the MTT assay for chemosensitivity testing in ovarian malignancy. *British Journal of Cancer*, 62(2), 189-194. <https://doi.org/10.1038/bjc.1990.258>
- Withayachumnankul, W., Jaruwongrunsee, K., Tuantranont, A., Fumeaux, C., ve Abbott, D. (2013). Metamaterial-based microfluidic sensor for dielectric characterization. *Sensors and Actuators A: Physical*, 189, 233-237. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2012.10.027>
- Xu, J., Song, S., Tang, Z., Jiang, Z., Liu, X., Zhou, L., Zhang, J., ve Liu, X. (1999). Predictive chemotherapy of advanced breast cancer directed by MTT assay in vitro. *Breast Cancer Research and Treatment*, 53(1), 77-85. <https://doi.org/10.1023/A:1006122912146>
- Yakovleva, M., Bhand, S., ve Danielsson, B. (2013). The enzyme thermistor—A realistic biosensor concept. A critical review. *Analytica Chimica Acta*, 766, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.004>
- Ye, W., Wang, D.-W., Wang, J., Wang, G., ve Zhao, W.-S. (2022). An Improved Split-Ring Resonator-Based Sensor for Microfluidic Applications. *Sensors*, 22(21), 8534. <https://doi.org/10.3390/s22218534>
- Yesilkoy, F., Arvelo, E. R., Jahani, Y., Liu, M., Tittl, A., Cevher, V., Kivshar, Y., ve Altug, H. (2019). Ultrasensitive hyperspectral imaging and biodetection enabled by dielectric metasurfaces. *Nature Photonics*, 13(6), 390-396. <https://doi.org/10.1038/s41566-019-0394-6>
- Yıldırım, A., Aksoy, T., ve Balcıoğlu, İ. C. (2025). Comparative Assessment of colorimetric assays in evaluating intracellular drug susceptibility of *Leishmania tropica* against conventional antileishmanial drugs. *Parasitology International*, 106, 103021. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2024.103021>
- Yücer, S., Sarac, B., ve Ciftci, F. (2025). 2D MOF structure, electrochemical biosensing in bioelectronic applications. *Npj 2D Materials and Applications*, 9(1), 81. <https://doi.org/10.1038/s41699-025-00603-y>
- Zhang, C. (1970). *Copy of Determination of viable cells by XTT*. <https://www.protocols.io/view/copy-of-determination-of-viable-cells-by-xtt-btiwnkfe>
- Zhang, H., Li, Y., Liu, Y.-W., Liu, Y.-G., ve Chen, X. (2024). Predictive value of lymphocyte subsets and lymphocyte-to-monocyte ratio in assessing the efficacy of neoadjuvant therapy in breast cancer. *Scientific Reports*, 14(1), 12799. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61632-z>

- Zhang, H., Zhou, X., Li, X., Gong, P., Zhang, Y., ve Zhao, Y. (2023). Recent Advancements of LSPR Fiber-Optic Biosensing: Combination Methods, Structure, and Prospects. *Biosensors*, 13(3), 405. <https://doi.org/10.3390/bios13030405>
- Zhang, W., Lin, J., Yuan, Z., Lin, Y., Shang, W., Chin, L. K., ve Zhang, M. (2024). Terahertz Metamaterials for Biosensing Applications: A Review. *Biosensors*, 14(1), 3. <https://doi.org/10.3390/bios14010003>
- Zhao, J.-M., Wang, Y.-K., Shi, B.-W., Wang, Y.-X., Jiang, Y.-F., Yang, G.-L., Gao, X.-D., ve Qiang, T. (2024). Microwave biosensor for the detection of growth inhibition of human liver cancer cells at different concentrations of chemotherapeutic drug. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1398189>
- Zhou, J., Jia, P., Zhang, Y., ve He, X. (2013). High sensitive biosensor based on aSRR and high-impedance microstrip line. *Proceedings of 2013 2nd International Conference on Measurement, Information and Control*, 01, 234-237. <https://doi.org/10.1109/MIC.2013.6757955>
- Zhou, R., Wang, C., Huang, Y., Huang, K., Wang, Y., Xu, W., Xie, L., ve Ying, Y. (2021). Label-free terahertz microfluidic biosensor for sensitive DNA detection using graphene-metasurface hybrid structures. *Biosensors and Bioelectronics*, 188, 113336. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113336>
- Zida, S. I., Lin, Y.-D., ve Khung, Y. L. (2021). Current Trends on Surface Acoustic Wave Biosensors. *Advanced Materials Technologies*, 6(6), 2001018. <https://doi.org/10.1002/admt.202001018>