

Mini Gel Electrophoresis Control Software and System Design With Python

 Ahmet Reşit KAVSAOĞLU¹, İsmail MERSİNKAYA^{2,*}
¹Karabük University, Faculty of Engineering, Department of Biomedical Engineering, 78050, Center/KARABÜK

²Aydın Adnan Menderes University, Söke Vocational School, Department of Electronics and Automation, 09200, Söke/AYDIN

Graphical/Tabular Abstract

In this study, it is aimed to increase the sensitivity of the analysis by minimizing the voltage fluctuation of the power supply during the electrophoresis process and the errors of the bands such as the bands overflowing out of the gel when the tester does not turn off the power supply in time; Control software, mini gel electrophoresis system design and application studies, which enable the devices used to operate in order of operation and the calculation operations can be performed automatically by a microprocessor and microcontroller interfaces.

Article Info:

Research article

Received: 18/09/2019

Revision 12/11/2019

Accepted: 18/11/2019

Highlights

- Electrophoresis Power Supply.
- Python Control Interface.
- Embedded Systems

Keywords

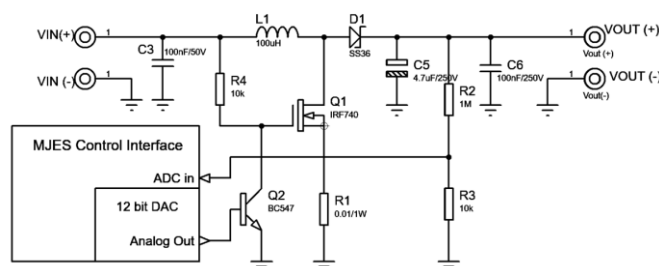
 Python
 Control Software
 Mini Gel Electrophoresis
 Embedded System


Figure A. DAC controlled power supply circuit diagram.

Purpose: In this study, control interface software and power supply control methods are developed and experiments are performed at different times and voltages. The number of experiments and the variety of applications were increased. The electrophoresis system variables given in the table are CLASSIC and MJES (Mini gel electrophoresis system).

Theory and Methods: In this study, fixed output voltage is generated in electrophoresis power supply with control software created with Python. For this purpose, Nixie power supply used as mini gel electrophoresis power supply was applied as test circuit. Instead of IRF644 mosfet and SS36 diode, DSEI12-06A diode with 35 ns switching time and 600 V voltage and IRF740 mosfet are used in the circuit. Tested with circuit control software.

Results: With this study, a new control system has been developed with interface software and automatic operation features by ensuring the adaptation of current technologies in gel electrophoresis process. The mini gel electrophoresis power supply controlled by the system has been created in a hardware structure compatible with many embedded system controllers and provided ease of use. Unlike classical gel electrophoresis system is designed and implemented as an integrated system. The band images in the formed mini gel were obtained by applying UV light and transferred to the electronic environment at the end of the process.

Conclusion: The control software created with Python and the power supply circuit controlled by this software have ensured that the voltage and time dependent values causing the mentioned effects to be kept constant throughout the process. Thus, unwanted effects such as smile curve, propagation, user control and band detection errors are prevented in the bands.



Python ile Mini Jel Elektroferez Kontrol Yazılımı ve Sistem Tasarımı

Ahmet Reşit KAVSAOĞLU¹, İsmail MERSİNKAYA^{2,*}

¹Karabük Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, 78050, Merkez/KARABÜK

²Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Söke Meslek Yüksekokulu, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, 09200, Söke/AYDIN

Öz

DNA, RNA ve protein molekülleri gibi yüklü makro moleküllerin bir elektrik alan içerisinde (-) ve (+) yüklü kutuplar arasında bir kutuptan diğerine doğru hareket ettirilerek ayrıştırılması yöntemine elektroferez denir. Klasik elektroferez işleminde güç kaynağı, UV (morötesi) transillüminatör ve jel görüntüleme için kullanılan cihaz ve malzemeler, süreç kontrolü işlemleri birbirinden ayrı işlemler olarak ve deneyi yapan kişiler tarafından yapılmaktadır. Gülümseme etkisi (smile effect), yayılım etkisi ve diğer etkiler analizlerdeki hassasiyeti düşürebilmekte ve sonuçlar üzerinde hatalı band görüntüsü ve band yoğunluğu hesaplamasına neden olabilmektedir. Bu çalışma, elektroferez işlemi süresince güç kaynağının gerilim dalgalanmasından ve deneyi yapan kişilerin zamanında güç kaynağını kapatmadığında bandların jel dışına taşması gibi hataları en aza indirerek analiz hassasiyetini arttırmayı; kullanılan cihazların işlem sırasına göre çalışabilmesi ve hesaplama işlemlerinin otomatik olarak bir mikroişlemci ve mikrodenetleyici arabirimleri tarafından yapılabilmesini sağlayan kontrol yazılımı, mini jel elektroferez sistem tasarımı ve uygulama çalışmalarını içermektedir. Tasarlanan kontrol yazılımı ve klasik elektroferez ile yapılan işlemler karşılaştırıldığında olumlu sonuçlar elde edildiği görülmüştür.

Makale Bilgisi

Araştırma makalesi
Başvuru: 18/09/2019
Düzeltilme: 12/11/2019
Kabul: 18/11/2019

Anahtar Kelimeler

Python
Kontrol Yazılımı
Mini Jel Elektroferez
Gömülü Sistem

Keywords

Python
Control Software
Mini Gel Electrophoresis
Embedded System

Mini Gel Electrophoresis Control Software and System Design With Python

Abstract

Electrophoresis is the method of separating charged macromolecules such as DNA, RNA and Protein molecules by moving them from one pole to the other, between (-) and (+) charged poles, in an electric field. In the classical electrophoresis process, devices and materials used for power supply, UV (ultraviolet) transilluminator and gel imaging, process control procedures are performed as separate processes and by the experimenters. Smile effect, diffusion effect and other factors may decrease the sensitivity in the analysis and may result in incorrect band image and band density calculation on the results. This study aims to increase the sensitivity of the analysis by minimizing the voltage fluctuation of the power supply during the electrophoresis process and the errors of the bands such as the bands overflowing out of the gel when the tester does not turn off the power supply in time; Control software, mini gel electrophoresis system design and application studies, which enable the devices used to operate in order of operation and the calculation operations can be performed automatically by a microprocessor and microcontroller interfaces. When the control software and classical electrophoresis processes were compared, positive results were obtained.

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Biyomedikal cihazların günümüz teknolojilerine uyumlu olarak geliştirilmesi ile biyomedikal mühendisliği alanında verimli ve sistematik çalışmalar yapılabilmektedir. Özellikle laboratuvar analiz çalışmalarında kullanılan cihazların hassasiyetleri ve kararlı analizler yapabilmesi deneysel çalışmaların değerlendirilmesi açısından oldukça önemlidir.

Parça büyüklüğü analizleri için mükemmel bir ortam sağlamanın yanı sıra agaroz jelleri, DNA parçalarının saflaştırılmasını sağlamaktadır. Bir agaroz jel içinde ayrılmış DNA boyutunun ayrıştırılması, kopyalama gibi bir dizi moleküler teknik için gerekli olduğundan, ilgilenilen parçaların jelden saflaştırılabilmesi önemlidir. Ayrıca, agaroz jel elektroferezi kullanılarak nükleik asit ayrılması, ilgilenilen bir bandın daha

fazla saflaştırılması için bir başlangıç basamağı olabilmektedir. Tekniğin uzatılması, istenen bandın UV transillüminatörü ile görüntülenene boyalı bir jelden çıkarılmasını içermektedir [1].

Agaroz jel elektroforezi, proteinleri, DNA veya RNA'yı ayırmak için rutin olarak kullanılan bir yöntemdir [2]. Nükleik asit molekülleri, negatif yüklü moleküllerin anot (pozitif) kutbuna doğru göç ettiği bir elektrik alanın yardımı ile ayrılmaktadır. Geçiş akışı yalnızca küçük ağırlıklı moleküllerin büyüklerden daha hızlı göç ettiği, molekül ağırlığı ile belirlenmektedir [3]. Bu elektroforez işlemi sürecinde oluşan yüksek miktardaki ısı ve akım jelin erimesine yol açar, DNA bandları gülümseme etkisi (smile effect) oluşur, DNA bandlarının çözünürlüğü azalır ve jel bozulur. Bu nedenle, standart boyuttaki jeller için 5-8 V/cm ve 75 mA veya mini jeller için 100 mA değerlerinin aşılması özellikle önerilmektedir. Diğer yandan, gerilim çok düşük olduğunda küçük DNA (≤ 1 kb) hareketliliği azalır ve saçınım ile yayınım nedeniyle band genişlemesi oluşmaktadır [4].

Bu konuyla ilişkili yapılan bazı çalışmalar şu şekildedir:

Hoagland'ın çalışmasında poliakrilamid jeller için voltaj kontrolü, çıkış uçları arasındaki kontrol devresine yerleştirilen 100 ohm'luk eşit dirençlerle yapılmıştır. Kontrol devresine değişken dirençler (kesiciler) yerleştirilmiştir. Bu ünite, 2 dev / dk'da dönebilen bir tambur üzerinde 60 adıma ayarlanmış, tırnaklarla aktive edilen 20 adet hareketli mikro anahtardan oluşmaktadır. Voltaj adımları istenilen seviyelere ayarlanabilir ve zamanlar 12 dakikalık aralıklarla uzatılabilir veya kısaltılabilir. Devre düzenlemesi ile sürekli geçerli çalışma elde edilebilmektedir. Sonuç olarak programlanan güç kaynağı, poliakrilamid jel elektroforezi için çok faydalı bir cihaz olduğunu kanıtlanmış ve rutin çalışmaların sıkı bir şekilde kontrol edilmesini sağlamıştır [5]. Başka bir çalışmada ise Kadokami ve arkadaşları konvansiyonel güç kaynağı yerine kullanılabilir tek diyottan oluşan basit bir devre tasarlamıştır. Bu şekilde elde edilen elektroforetik kalıplarda kayda değer bir fark olmadığı, bu basit, ekonomik sistemin laboratuvar, endüstriyel, eğitimsel ve klinik tesislerde kullanılabilirliği belirtilmiştir [6]. Benzer bir çalışmada ise Walker ve Blair, plazmidlerin iyi çözünürlüğünü vermek ve endonükleaz DNA sindirimini kısıtlamak için kullanılabilir çok basit ve ucuz ekipmanlardan oluşan bir devre geliştirmiştir. Elektroforetik ayırmalar, düşük maliyetle kolayca temin edilebilen ve emniyetli voltajlarda çalışan 12 volt şebeke adaptörleri tarafından sağlanan doğru akım kullanılarak elde edilmiştir [7].

Konu alanı ile ilgili yapılan çalışmalar incelenerek bu çalışma ile nükleik asit ve protein ayırma yöntemi olarak kullanılan elektroforez işlemi için iki farklı sayısal kontrol yöntemi geliştirilmiş ve bu kontroller Python programlama dili kullanılarak hazırlanan arayüz yazılımı ile sağlanmıştır. İlk olarak jel elektroforezi oluşturan güç kaynağı devresinin kontrolünde sayısal potansiyometre ve DAC (Dijital analog çevirici) kullanılarak gömülü sistem ile uyumlu çalışabilecek güncel bir tasarım gerçekleştirilmiştir. Bu tasarım UV transillüminatör ve jel görüntüleme seti ile bir bütün halinde işlem yapabilecek, kullanıcı ile etkileşimli bir arayüze sahip, elde edilen görüntülerin gömülü sistem tabanlı elektronik ortama aktarıldığı özelliklere de sahiptir. Ayrıca bu çalışmada donanımsal olarak birbirinden bağımsız şekilde kullanılan elektroforez güç kaynağı, elektroforez tankı, UV transillüminatör ve jel görüntüleme cihazlarının mini jel elektroforez uygulamaları için bütünleştirilmiş bir sistem halinde kullanımı sağlanmıştır. Ayrıca elektroforez işlemi sonucunda band görüntülerinde oluşan gülümseme etkisi, geliştirilen kontrol yöntemleri ile azaltılarak klasik sisteme göre daha düzgün ve ölçülebilir band görüntülerinin oluştuğu belirlenmiştir.

Çalışmada öncelikle elektroforez işlemi hakkında bilgi verilmiştir. Daha sonra jel elektroforez işleminde kullanılan güç kaynağı devresinin teorik alt yapısı ve çalışmada kullanılan mini jel elektroforez işlemi için yeni kontrol yöntemleri uygulanarak tasarlanmış güç kaynağı devreleri hakkında bilgi verilmiştir. Bir sonraki bölümde Python programlama dili ile oluşturulan kontrol arayüzünün işlevleri ve sistemin kontrol algoritma şeması açıklanmıştır. Son olarak oluşturulan sistem ile yapılan test ve uygulama deneylerinde ölçülen değerler ve alınan band görüntüleri analiz edilmiştir.

2. ELEKTROFOREZ (ELECTROPHORESIS)

2.1. Tanımı (Description)

Elektroforez; elektrolit çözeltisi içerisinde elektrik akımı geçtiğinde elektrot kutubuna zıt yönde çözülmüş ya da dağılmış, elektrik yükü ile yüklenen protein, kolloid, molekül ve diğer parçacıkların hareketi olarak belirtilen bir fiziksel analiz yöntemidir. Elektrik alan etkisi ile yüklenen moleküllerin hareketleri zıt yüklü elektrotlara doğrudur. Bu hareket elektroforetik hareketlilik olarak adlandırılır ve $m^2 / (Volt \times saniye)$ birimi ile ifade edilen 1 metrede 1 voltluk elektrik alanın etkisi altında, yüklenmiş parçacıkların birim zamanda metre biriminde hareketi ve $(Volt \times saniye)$ başına metrekare olarak birimi ile (Eşitlik.1) ifade edilmektedir. Pratik olarak $cm^2 / (Volt \times saniye)$ birimi kullanılır [8].

Mobilite, verilen bir iyon ve ortam için karakteristik bir özelliktir ve bir elektrik alan tarafından verilen kuvvet ve onun ortam boyunca bir sürtünme kuvveti tarafından belirlenmesidir.

$$\mu_{ep} = \frac{q}{6\pi\eta} [9]. \quad 1$$

Wenz ve diğerlerinin tanımına göre jel elektroforez; boyutları ve yükleri esas alınarak makro molekülleri (DNA, RNA ve protein) ve onların parçalarını analiz ve ayırma yöntemidir. Nükleik asit moleküllerini hareket ettirmek ve ayırmak için bir elektrik alan agaroz ya da başka bir tampon üzerinden uygulanır. Kısa moleküllerin hareketi uzun moleküllerin hareketinden hızlı ve uzak mesafeye olacak şekildedir. Bunun nedeni kısa moleküllerin jel yapısındaki deliklerden kolaylıkla geçmesidir. Bu işlem eleme olarak tanımlanır [10-12].

2.2. Jel Elektroforez Çeşitleri (Types of Gel Electrophoresis)

En sık kullanılan Jel Elektroforez çeşitleri [8];

1. Poliakrilamid Jel Elektroforez (PAGE)
2. Agaroz Jel Elektroforez (AGE)

2.2.1. Poliakrilamid Jel Elektroforez (Polyacrylamide Gel Electrophoresis)

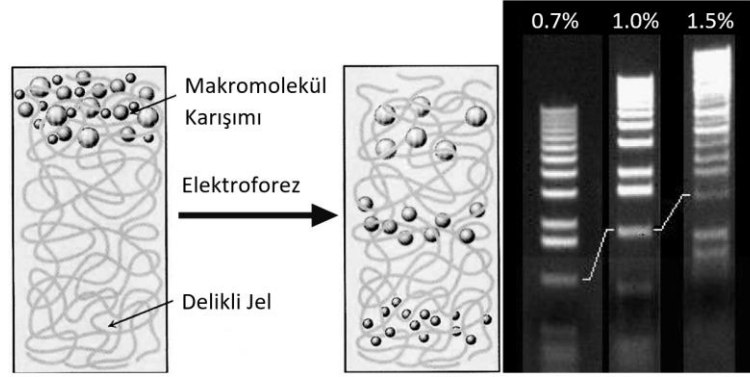
Hem proteinlerin hem de nükleik asitlerin elektroforetik olarak ayrılması için uygun çok daha güçlü bir jel, akrilamidin polimerizasyonu ile oluşturulabilir. Bir metilen köprüsü (N,N': metilenbisakrilamid) ile bağlanan az miktarda bir akrilamid çaprazının dahil edilmesi, mekanik olarak güçlü ve kimyasal olarak inert olan yüksek kontrollü bir gözenekliliğe sahip çapraz bağlı bir jelin oluşmasına izin verir. Proteinlerin ayrılması için, akrilamid: N,N' metilen bisakrilamid oranı genellikle 40:1 iken DNA ayrımı için 19:1'dir. Bu tür jeller, geniş bir kütle aralığında DNA ve proteinlerin yüksek çözünürlüklü ayrımı için uygundur [13].

2.2.2. Agaroz Jel Elektroforez (Agarose Gel Electrophoresis)

Agaroz jelleri, 10 nm çapından büyük moleküllerin analizinde büyük gözenekler gerektiğinde kullanılır. Agaroz, kırmızı deniz yosundan elde edilen bir polisakkarittir. Agaroz jel elektroforez uygulamasında kullanılan malzemeler basittir ve içeriğinde; elektroforez tankı, güç kaynağı, jeli dökmek için tepsi, elektroforez tamponu, örnek yükleme tarakları, yükleme tamponu, boya ve transillüminatör bulunur. Jel hazırlamada, elektroforez tamponuna belirlenen yoğunlukta agaroz tozu karıştırılır ve eritmek için mikrodalga fırında ısıtılır. Elektroforez işlemi sonrasında DNA görüntüsünün kolay alınabilmesi için jele EtBr (Ethidium Bromide) (0,5µg/ml) eklenir. Çözelti yaklaşık olarak 60°C'ye kadar soğuduğunda örneklerin yüklenmesi için tarakların olduğu tepsiye dökülerek, oda sıcaklığında jel haline dönüşmesi için soğumaya bırakılır. Jel haline geldiğinde tarak, kuyucuklar bozulmadan dikkatli bir şekilde çıkarılır. Tepside bulunan jel tampon ile kaplanmak için yatay bir şekilde elektroforez tankına yerleştirilir. DNA ve tampon karışımına sahip örneklerin kuyucuklara yerleştirilmesi mikro pipet ile yapılarak kapak ve güç

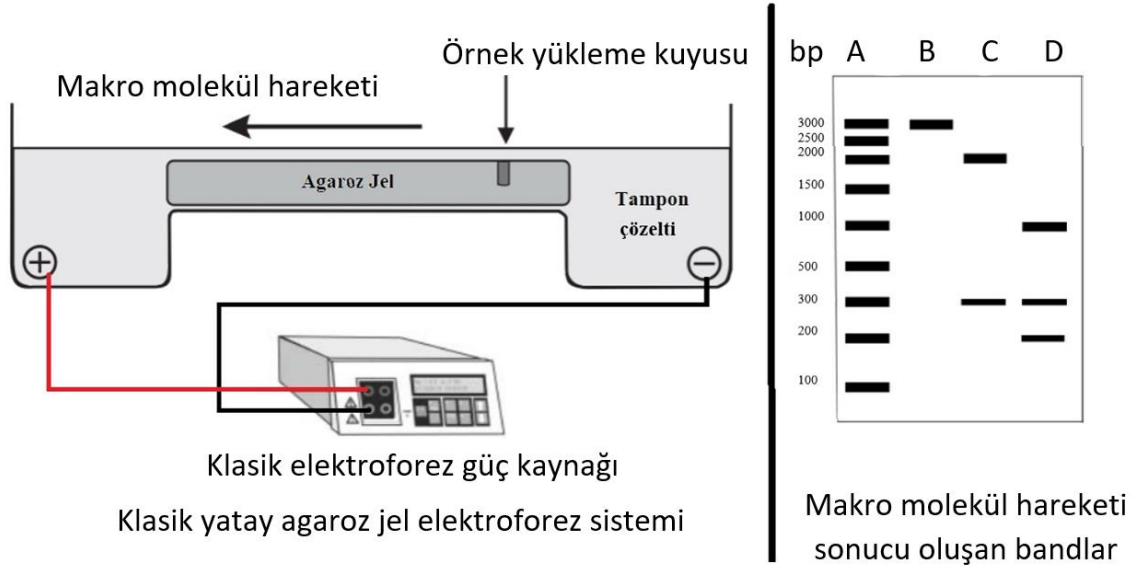
kablolari takıldıktan sonra güç kaynağından enerji uygulanır. Elektrot uçlarında baloncuk meydana gelmesi, akım hareketinin oluştuğunu belirtir [13].

Elektroforez işlemi sonrasında makro molekül karışımı yapısı delikli jel içerisinde ayrışır ve alt ya da üst kısmından UV ışığı verildiğinde band görüntüsünün oluşumu Şekil 1’de gösterilmektedir. Jeldeki DNA’nın hareketi Xylene-cyanol ve Bromophenol mavisi gibi boyaların hareketi sonucu oluşan izler ile belirlenir [13].



Şekil 1. Elektroforez işlemi sırasında jel üzerinde ayrılmış makro moleküller [13].

Klasik elektroforez sisteminde jel içindeki makro moleküllerin hareketi, güç kaynağının kutupları elektrolit çözeltisi ile jelin bulunduğu tankın uçlarına Şekil 2’deki gibi bağlanarak sağlanmaktadır.



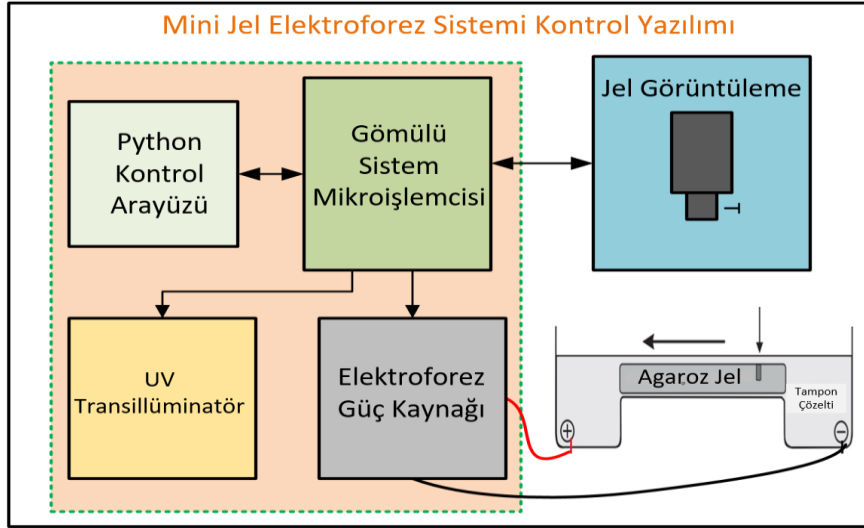
Şekil 2. Yatay agaroz jel elektroforez sisteminde makro moleküllerin göçü.

3. PYTHON İLE MİNİ JEL ELEKTROFOREZ KONTROL YAZILIMI (MINI GEL ELECTROPHORESIS CONTROL SOFTWARE WITH PYTHON)

Python programlama dili 1991 yılında Guido Van Rossum tarafından tanıtılması ile en yaygın kullanıma sahip, genel amaçlı, yüksek seviye programlama dillerinden biri haline gelmiştir. Python, açık kaynaklı bir programlama dili olarak birçok destekleyici kütüphaneyi içermektedir. Bu kütüphaneler Python'u en çok genişleyen ortamlardan biri yapan en iyi özelliğidir. Python, dinamik bir programlama dili olarak çalıştırılabilir kodları derleyip oluşturmak için bir derleyici kullanmak yerine kodun çalıştırılması sırasında bir tercüman kullanır. Python'un geliştirilme amacı, kavramların kolayca ifade edilmesi için esnek,

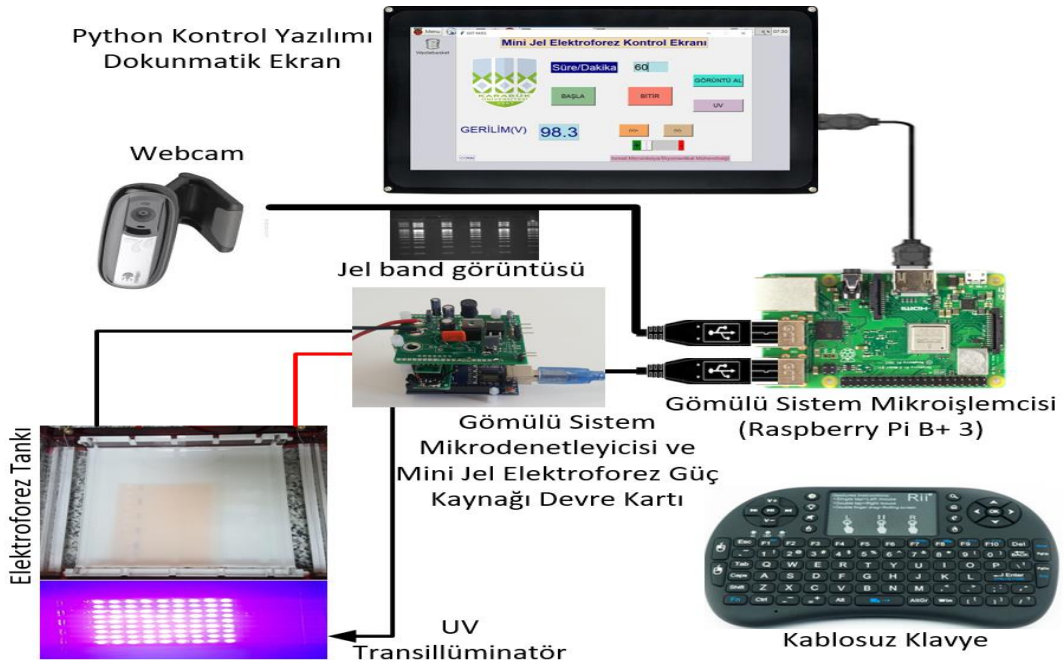
okunabilir ve açık kodlar oluşturmaktır. Python, otomatik bellek yönetimi sayesinde işlevsel, zorunlu ve nesne yönelimli programlamayı desteklemektedir [20].

Python ile oluşturulan kontrol yazılımı ve kontrol edilen mini jel elektroforez sistemi uygulamasına ait blok şema Şekil 3'te verilmektedir. Şekilde bloklar arasındaki iletişim tek yönlü ve karşılıklı olarak oklarla belirtilmektedir. Sistemin kontrolünde gömülü sistem mikrodenetleyici kartına (Arduino UNO) donanım yazılımı (firmware) yüklenerek USB bağlantısı üzerinden gömülü sistem mikroişlemci kartı (Raspberry Pi 3 B+) ile haberleşmesi sağlanmaktadır. Anlık veriler ve işlem sonrasında görüntüler kontrol arayüzünde gösterilmektedir.



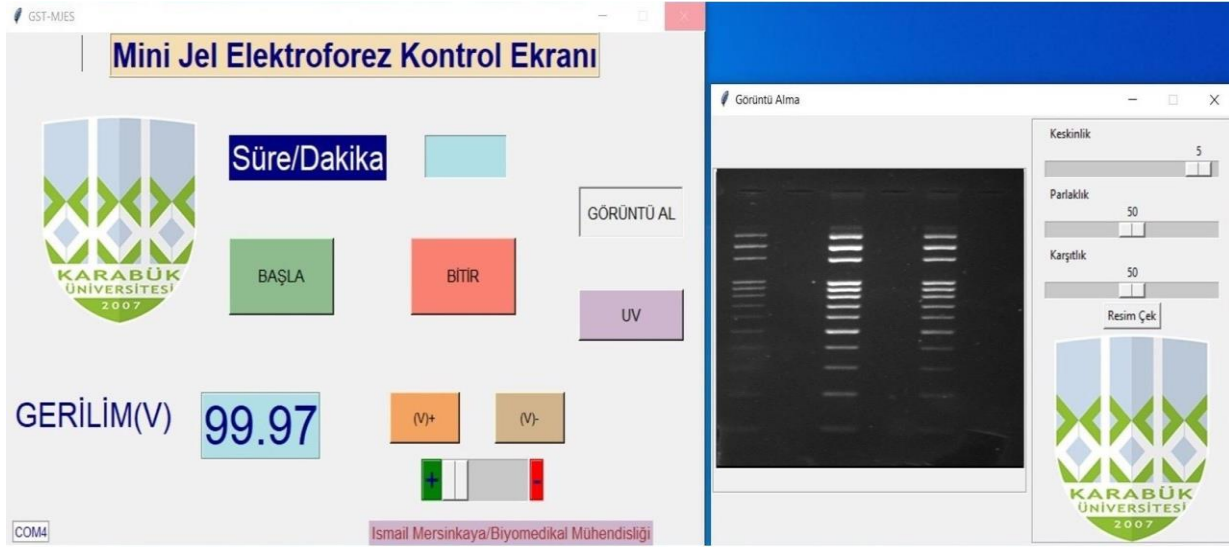
Şekil 3. Python ile mini jel elektroforez kontrol yazılımı ve sistem tasarımı blok şeması

Çalışmanın sistem akış şeması Şekil 4'te gösterilmektedir. Sistemin güç kaynağı devresi kontrolünü mikrodenetleyici kart ile sağlayabilmek için devre kartı ayrılabılır bir birim olarak tasarlanmış ve mikrodenetleyici kart soketlerine yerleştirilmiştir.



Şekil 4. Python ile oluşturulan kontrol yazılımı ve kontrol edilen mini jel elektroforez sistemi uygulama blok şeması.

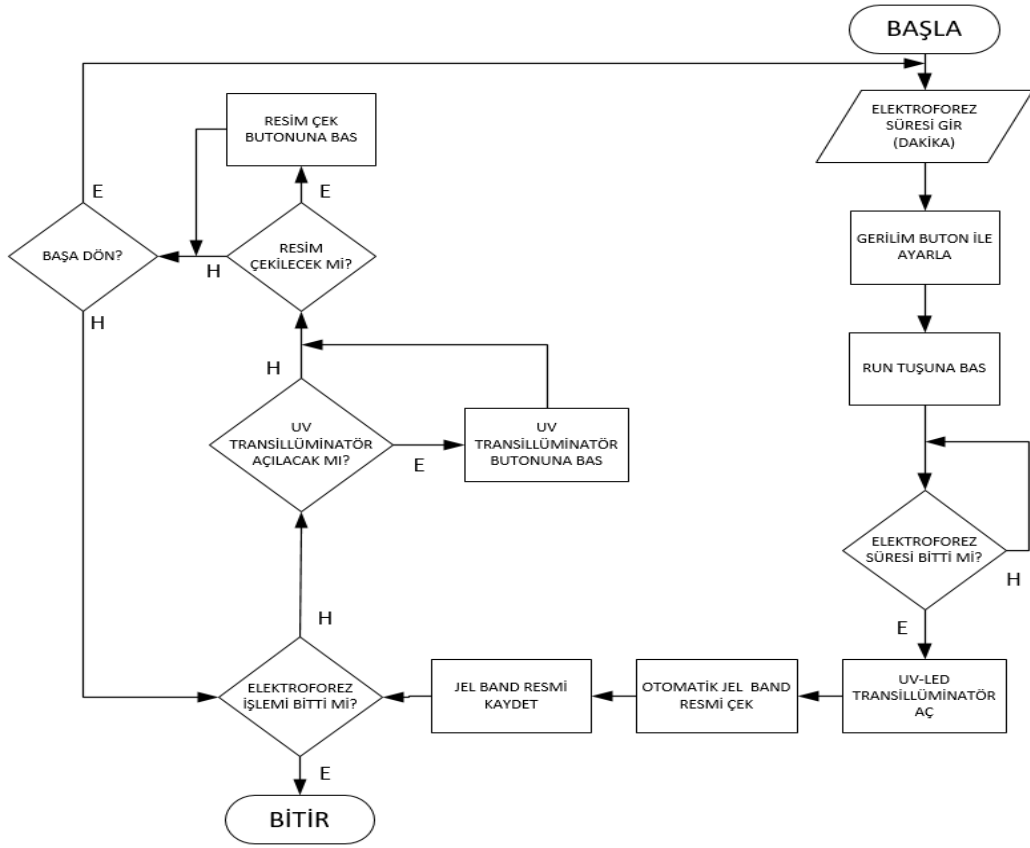
Şekil 5’te gösterilen arayüz yazılımı, gömülü sistem işlemcili geliştirme kartı (Raspberry Pi) üzerinde yüklü Raspbian-Linux işletim sisteminde, Python 3.5 programlama dili kullanılarak oluşturulmuştur. Kullanıcı arayüzü ile elektroforez işlemi için gerekli gerilim değerleri, elektroforez süresi, süre sonunda band görüntüsü almak için UV transillüminatör ve kamera ile band resmi alma işlemleri kontrol edilmiştir [14].



Şekil 5. Python ile mini jel elektroforez kontrol arayüz yazılımı.

Sistem kontrol arayüzü tasarımında Python programlama dilinde sık kullanılan Tkinter kütüphanesi özelliklerinden faydalanılmıştır. Bu sayede Şekil 5’te gösterilen arayüz üzerinde istenilen kontrol nesnelere istenilen düzende yerleştirilebilmektedir. Özellikle gerilim değerinin arayüz ekranında görülebilmesi, kullanıcı açısından kolaylık sağlamaktadır.

Kontrol yazılımının akış şeması Şekil 6’da gösterilmiş, işlem ve karar adımları açık bir şekilde belirtilmiştir. Elektroforez işlemi için hazırlanan jel yatay elektroforez tankına yerleştirilerek tankın uçlarındaki (+) ve (-) kutuplara sistem güç kaynağının kırmızı ve siyah çıkış soketlerine takılı enerji kabloları bağlanır. Sistemin çalıştırılması ile ekrana gelen arayüz üzerinde, uygulanacak elektroforezin süresi dakika olarak girilir. İstenilen gerilim değeri yazılımda oluşturulan buton nesnesi ve kaydırma çubukları yardımıyla ayarlanarak “BAŞLAT” butonu ile elektroforez işlemi başlatılmış olur. Elektroforez süresi bitiminde sistem, yazılımda tanımlanan fonksiyona bağlı olarak 2 saniye aralıklar ile önce güç kaynağını kapatır sonra UV transillüminatörü açar ve jel üzerinde görüntülenen bandların resmini otomatik olarak çekerek kaydeder. Bu işlem sırası bittiğinde istenirse UV transillüminatör “UV” butonu ile tekrar açılabilir ve “GÖRÜNTÜ AL” butonu ile (Şekil 5’teki gibi) band resmi almayı sağlayan alt program çalıştırılarak istenilen band resmi kaydedilebilir. Pencere kapama ekranına basılmadığı sürece arayüz güç kaynağının bağlı olduğu gömülü sistem, mikrodenetleyici kartı ile USB bağlantısı üzerinden sürekli iletişim halindedir ve ekran üzerinde gerilim değeri anlık olarak görülebilmektedir.



Şekil 6. Kontrol yazılımının akış şeması

Çalışmada jel elektroforez işlemi için güç kaynağı olarak artıran tip DA-DA çevirici devresi kullanılmıştır. Anahtar kapandığında ilk durumda diyot ters polarmalı olduğundan çıkış yalıtılmış durumdadır. Girişten uygulanan gerilim ile bobin enerjilenir. Anahtar açıldığında girişten ve bobinden alınan çıkış enerjisi, giriş enerjisini de arttırmaktadır. Burada belirtilen kalıcı durum analizidir. Çıkış filtre kondansatörü oldukça büyük kabul edilerek sabit çıkış gerilimi sağlanmaktadır ($V(t) \cong V_o$). Şekil 7’de artıran tip güç kaynağı devresi gösterilmektedir. Bir zaman periyodundan fazla indüktör gerilimine ait zamanın integrali kalıcı durum süresince sıfırdır;

$$TS = t_{on} + t_{off} \text{ ve } D = \frac{t_{on}}{TS} \quad [16] \quad 2$$

olarak verildiğinde;

$$V_d \times t_{on} + (V_d - V_o) \times t_{off} = 0 \quad [16] \quad 3$$

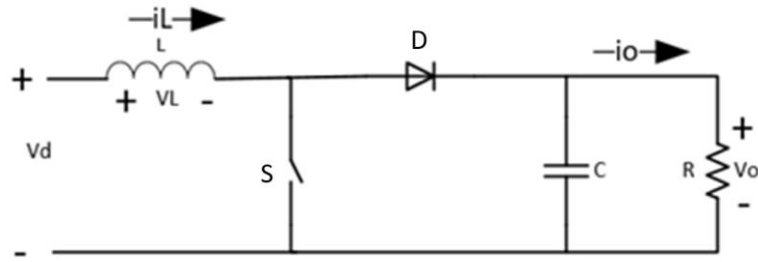
Her iki taraf T_s 'e bölüldüğünde;

$$\frac{V_o}{V_d} = \frac{T_s}{T_{off}} = \frac{1}{(1-D)} \quad [16] \quad 4$$

Kayıpsız bir devre için;

$$P_d = P_o, V_d \times I_d = V_o \times I_o \text{ ve } \frac{I_o}{I_d} = (1 - D) \quad 5$$

olmalıdır [16].



Şekil 7. Arttıran tip DA-DA çevirici [16].

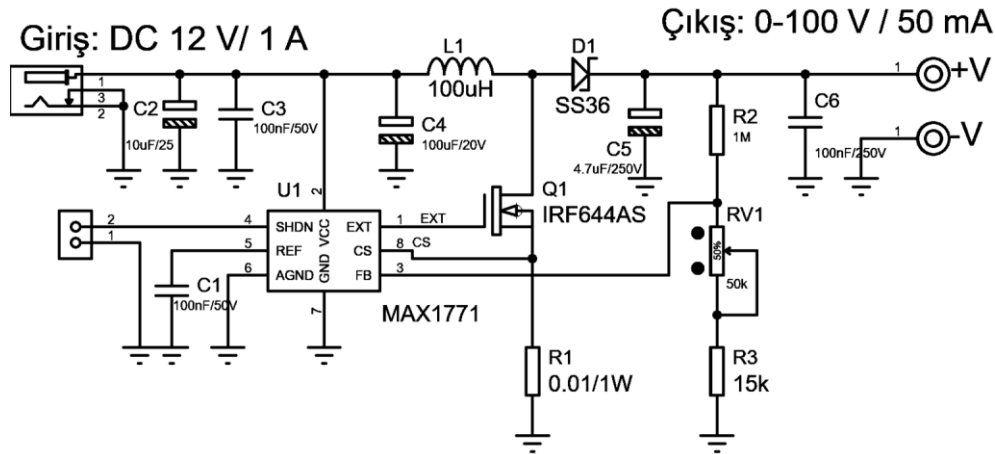
DA-DA çevirici devresinin çalışmasında S anahtarlama elemanının yüksek seviyede (Bu çalışma için KHz seviyesi) tetikleme sinyaline uygun olması gerekmektedir. Bobin üzerinden depolanan enerjinin çıkış kondansatörünü DA gerilim ile doldurabilmesi, yüksek anahtarlama hızı ve D diyotu için de yüksek gerilim ve akım değerlerini hızlı anahtarlama sürelerinde (Bu çalışma için nanosaniye) çıkışa iletebilmesi ile mümkündür.

Bu çalışmada kullanılan güç kaynağı devresinin çıkış gerilimi;

$$V_{out} = V_{ref} \times \left(\frac{R_2}{(R_3 + R_{V1})} + 1 \right) \quad [17] \quad 6$$

formülü ile hesaplanmaktadır. Bu formüldeki V_{ref} gerilim değeri, mikrodenetleyici üzerinde bulunan ADC (Analog sayısal dönüştürücü) giriş birimi ile mikroişlemciye gönderilerek sistem kontrol yazılımı ile hesaplanan değerlerin arayüz formunda görüntülenmesi sağlanmıştır. Analog veri dönüşümleri kontrolör içerisinde bulunan alt mimariler ile sayısal verilere dönüştürülerek algılanmaktadır [18].

Çalışmada Python ile oluşturulan kontrol yazılımı ile elektroforez güç kaynağında sabit çıkış gerilimi oluşturulmuştur. Bunun için mini jel elektroforez güç kaynağı olarak kullanılan Şekil 8’de verilen Nixie güç kaynağı [17] test devresi uygulamasında kullanılan IRF644 mosfeti ve SS36 diyotu yerine, 35 ns anahtarlama süresi ve 600 V gerilim değerlerine sahip DSE112-06A diyotu ve IRF740 mosfeti kullanılarak kontrol yazılımı ile test uygulaması yapılmıştır.

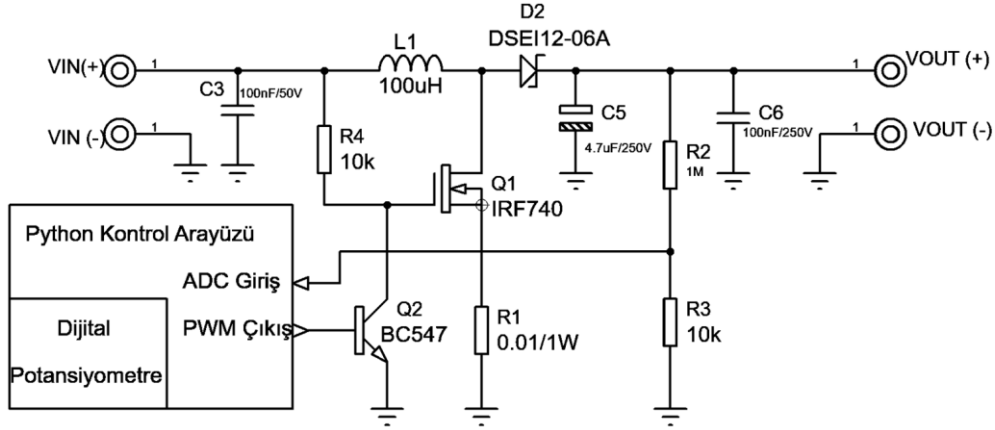


Şekil 8. Nixie güç kaynağı [17].

Yöntemlerden ilki güç devresinin kontrolü için Şekil 9’da belirtilen devreye 10KΩ değerindeki X9C103S dijital potansiyometresi eklenerek 31 kHz ve 62 kHz’lik PWM sinyal frekanslarının değiştirilmesi ile anahtarlama elemanı olarak kullanılan Q_1 IRF740 mosfeti Q_2 BC547 transistörü ve direnç devresi üzerinden sürülerek çıkış gerilimin arttırılıp azaltılmasının sağlanmasıdır. D1 diyotu olarak da 35 nsn

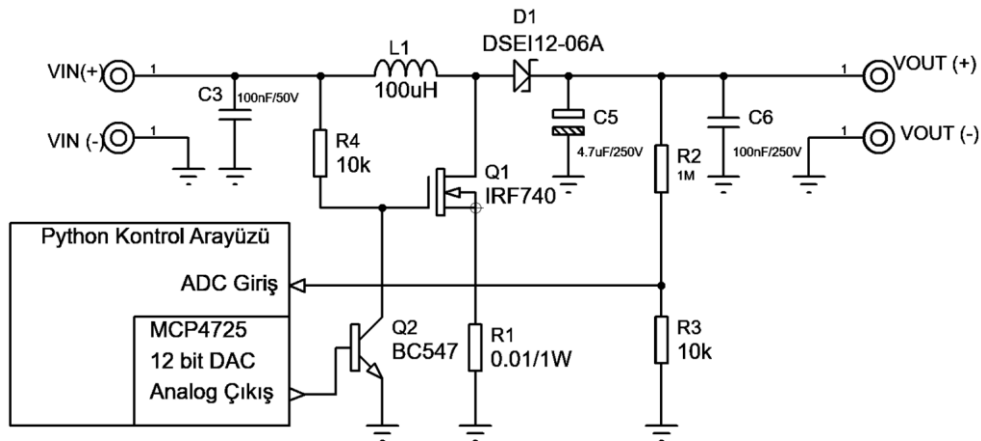
tetikleme süresi ve 2 A ile 600 V değerleri iletebilen DSEI12-06A diyotu kullanılmıştır. Dijital potansiyometre 100 adımda 0 Volt ile 100 Volt değeri arasında ayarlama yapmayı sağlamaktadır.

Gerilim bölücü dirençlerden gelen geribesleme gerilimi, sistemin ADC girişinden algılanarak devre çıkış geriliminin hesaplanıp arayüz üzerinden gösterilmesi için oluşturulan yazılım algoritmasına gönderilmektedir. Yazılım algoritması ADC girişine gelen analog değeri sayısal değere dönüştürerek hesaplanmasını sağlar. Gömülü sistem mikrodenetleyicisinin (Arduino UNO) ADC girişi 10 bit (100 μ s okuma hızı) çözünürlüğe sahiptir. Bu çözünürlük 5 Volt gerilimin 1024 birime bölünerek ($5 \text{ V} / 1024 = 4.9 \text{ mV}$) birim başına 4.9 mV'luk değer okunmasını sağlamaktadır. Her bir birimin okunma hızı da 100 μ s olarak belirtilmiştir [15].



Şekil 9. Dijital potansiyometre kontrollü güç kaynağı devre şeması.

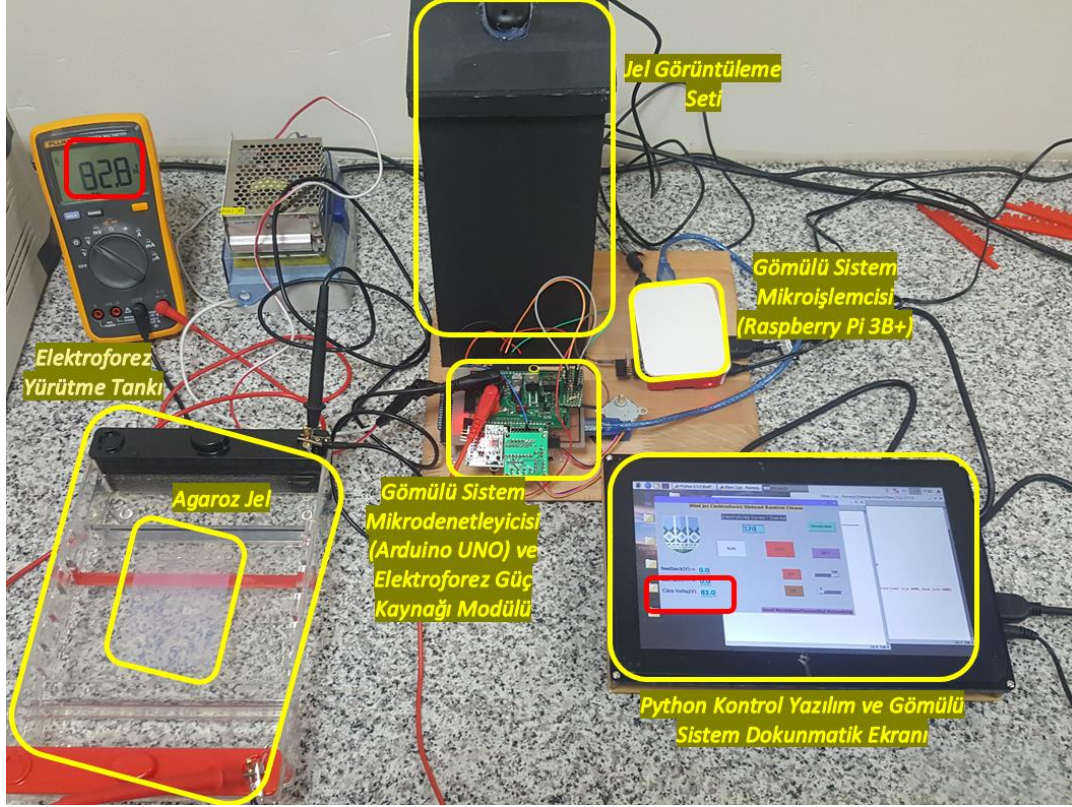
Yöntemlerden ikincisi, Şekil 10'daki devrede MCP4725 DAC (Sayısal Analog Dönüştürücü) entegresi kullanılarak transistör tetikleme gerilimi değiştirilmiş ve IRF740 mosfetinin anahtarlama işlemi yapılarak çıkış geriliminde değişim sağlamaktadır. Kullanılan DAC entegresi 12 bit çözünürlükte 0 ile 5 volt gerilim değerleri arasında analog çıkış kontrolünü ve bu gerilim değerleri Şekil 10'da gösterilen devrede Q₂ transistörünün tetiklenmesini sağlamıştır. Tetikleme sonucunda anahtarlama elemanı Q₁ ile IRF740 mosfeti sürülerek çıkış gerilimi artırılıp azaltılmıştır.



Şekil 10. DAC kontrollü güç kaynağı devre şeması.

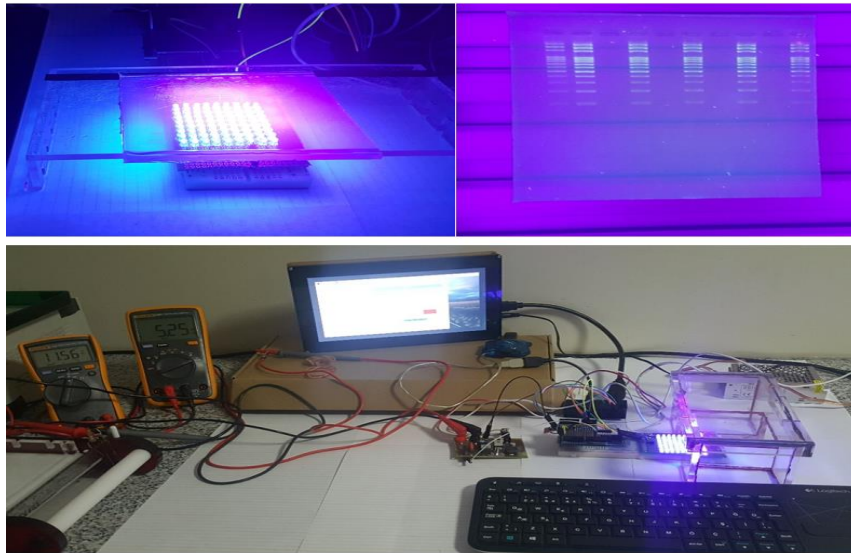
İkinci kontrol yönteminde, arayüz yazılımında oluşturulan işlev kaydırma çubuğu sınırları olarak 12 bit karşılığı 0 ile 4096 arasında 1 artırımlı olarak değişken değerinin 0-4096 arasında değişimini sağlamaktadır. Böylece DAC entegresinin değişken değerlerinin değişimi ile çıkış geriliminde 0-5 volt aralığında sabit DC gerilim ile mosfet anahtarlama elemanının kontrolü sağlanmaktadır. Böylelikle güç kaynağı çıkış gerilimi istenilen değerde sabitlenmektedir. DAC entegresinin değişken değeri "0" değerini aldığı anda çıkış gerilimi

uygulama üzerinde giriş ile aynı değere inerek elektroforez işleminin sonlanmasını sağlamaktadır. Böylelikle Python arayüz yazılımında oluşturulan kontrol algoritması ile değişik sürelerde sistemin çalıştırılması sağlanmakta ve Şekil 11’de gösterilen elektroforez işlemi, oluşturulan yazılım ile kontrol edilebilmektedir.



Şekil 11. Python ile mini jel elektroforez kontrol yazılımı ve sistem tasarımı

Elektroforez süresi sonunda makro moleküllerin ayrıştığını belirten bandların görüntülenmesi, Şekil 12’de verilen karanlık bir kutu içerisinde çalıştırılan 320 nm dalga boyundaki UV transillüminatörün UV ışığının jele alt kısımdan uygulanması sonucunda kamera yardımıyla sağlanmaktadır.



Şekil 12. Elektroforez işleminden sonra Python kontrol yazılımı ile jel görüntüleme setine ait UV transillüminatörün band görüntüleme için çalıştırılması.

UV transillüminatör devresi sistemin resim çekme işleminden önce devreye girerek jel görüntüsünün en uygun band görüntü resmini almayı sağlamıştır. Devre mat siyah fotoblok malzemeden yapılmış görüntüleme kutusunun içinde alt kısma, üzerinde amber filtre ile yerleştirilmiştir. Görüntünün alınmasını sağlayan kamera transillüminatörün tam karşısına gelecek şekilde 30 cm üstüne yerleştirilmiştir.

Band görüntüleme için deneysel uygulamalarda kullanılan iki farklı boyanın özellikleri Tablo 1'de belirtilmektedir. Verilenlere göre SYBR Green mutajen etkiye sahip olmadığı için deneysel çalışmalarda tercih edilmektedir. Böylece çalışma ortamlarının daha sağlıklı olması sağlanmaktadır. Çalışmada yapılan deneylerde, ortam güvenliği ve boyama kolaylığı sağlaması nedeni ile SYBR Green boyası kullanılmıştır.

Tablo 1. Band görüntüleme için kullanılan görüntüleme boyaalarının karşılaştırılması [19].

SYBR® Green	Ethidium Bromide (EtBr)
<p><i>GelStar ve SYBR Yeşil Nükleik Asit Jeli Boyaları, agaroz jellerinde nükleik asitleri tespit etmek için oldukça hassas ışık yayan boyalardır. Etidyum bromürün aksine, bu boyalar sadece nükleik asitlere bağlandığında ışık yayar. Arka plan boyaması minimumdur ve jellerin kirlenmesine gerek yoktur.</i></p> <p><i>GelStar Stain, çift sarmallı veya tek sarmallı DNA ve RNA için yüksek saptama hassasiyeti sağlar.</i></p> <p><i>SYBR Green I Stain, çift zincirli nükleik asitler için tercihi benzeşim gösterir ve SYBR Green II Stain tek zincirli nükleik asitler için en hassastır.</i></p> <p><i>-Boyama çözeltilisinden jel çıkarılır ve 300 nm UV transillüminatörle görüntülenir.</i></p>	<p><i>Ethidium bromide, hem tek hem çift sarmallı DNA tespit eden floresan bir boyadır. Bununla birlikte, tek zincirli DNA için benzeşim, çift zincirli DNA'ya kıyasla nispeten düşüktür.</i></p> <p><i>Ethidium bromide, DNA bazları arasında araya giren ve DNA'ya bağlandığında floresans veriminde bir artışa neden olan düzlemsel bir grup içerir.</i></p> <p><i>Ethidium bromide boyalı DNA, ultraviyole radyasyonla tespit edilir. 254 nm'de UV ışığı DNA tarafından emilir ve boyaya iletilir; 302 nm ve 366 nm'de UV ışığı, bağlı boyanın kendisi tarafından emilir. Her iki durumda da, görünür spektrumun kırmızı-turuncu bölgesinde 590 nm'de enerji yeniden yayılır.</i></p>
<p>Avantajları</p> <p><i>- Yüksek hassasiyet –etidyum bromürden 25-100 kat daha hassas.</i></p> <p><i>Esnek – GelStar Stain'i doğrudan agaroz çözeltilisine ekleyin veya jelinizi GelStar veya SYBR Green Stains ile boyayın.</i></p> <p><i>Hızlı – İstenmeyen</i></p>	<p>Dezavantajları</p> <p><i>Mutajen – Kalıtsal genetik hasarlara neden olabilir</i></p>

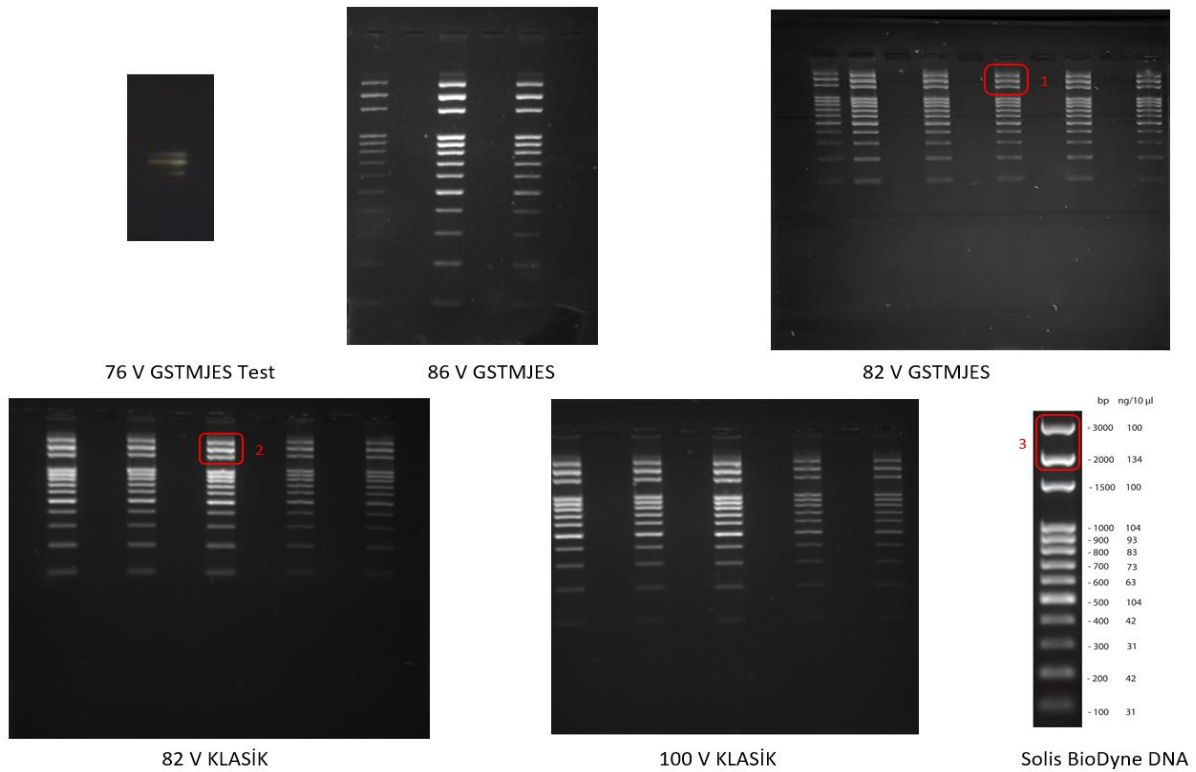
4. BULGULAR VE TARTIŞMA (RESULTS AND DISCUSSION)

Bu çalışmada geliştirilen kontrol arayüz yazılımı ve güç kaynağı kontrol yöntemleri ile farklı süre ve gerilimlerde deneyler yapılmıştır. Deneylerin sayısı ve uygulama çeşitliliği artırılmış, geliştirilen kontrol yazılımı ile kontrol yöntemleri, elektroforez işleminin yapıldığı sistem ve işlemde kullanılan değişken değerleri Tablo 2'de belirtilmektedir. Tabloda belirtilen elektroforez sistemi değişkenleri KLASİK ve MJES (Mini jel elektroforez sistemi) şeklinde verilmiştir. MJES değişkeni bu çalışmada geliştirilen kontrol yazılımının kullanıldığı ve geliştirilen sayısal kontrol yöntemlerini içeren sistem olarak belirtilmektedir.

Tablo 2. Uygulaması yapılan elektroforez işlemlerinin karşılaştırılması.

Uygulama Sıralaması	Elektroforez İşlemi için Kullanılan Değişken Değerleri				Kontrol Yöntemi	Elektroforez Sistemi
	Gerilim (V)	Akım (mA)	Süre (Dakika)	DNA Boyası		
1	76	63	30	EtBr	2	MJES
2	82	43	90	SYBR	2	MJES
3	82	43	90	SYBR	-	KLASİK
4	86	44	120	SYBR	1	MJES
5	100	34	120	SYBR	-	KLASİK

Tablo.2’de verilen değerlerin sonucunda oluşan band görüntüleri Şekil 13’te gösterilmiştir. Band görüntüleri incelendiğinde, giriş bölümünde tanımlanan gülümseme eğrisi ve yayılım etkilerinin, SYBR Green ürün veri sayfasında verilen görüntülerdeki eğri ve yayılım etkilerinden daha az olduğu görülmektedir. Bu sonuca tabloda verilen 82 V gerilimde yapılan 2 ve 3 nolu elektroforez işlemlerinden elde edilen band görüntülerinin karşılaştırılması ile varılmaktadır. Her iki görüntüden alınan 443x115 piksel boyutunda birer band görüntüsü, istatistiksel analiz yöntemlerinden biri olan ortalama mutlak sapma (MAD) işlemine tabi tutulmuştur. Ortalama mutlak sapma alternatif bir dağılım özetidir. Bu sadece her bir puan ile toplam ortalama arasındaki mutlak farkların ortalamasıdır. Ortalama olarak, herhangi bir rakamın genel ortalamadan farklı olduğu miktardır. Ortalama mutlak sapma, sonuçta her sapmaya orantılı yerini verir [21]. Böylece aynı bandların iki farklı sistemde piksel olarak ortalama mutlak sapmalarının oranı hesaplanmıştır. Bu hesaplama ile bandların yatay olarak düz bir doğruya ne kadar yakın oldukları (0 a yakın) bulunarak sistemin bandlar üzerindeki işlevselliği belirtilmiştir. Ortalama mutlak sapma değeri “0” a yakın olan bandlar daha düzgün yani gülümseme eğrisi daha düşük olarak ifade edilebilir.

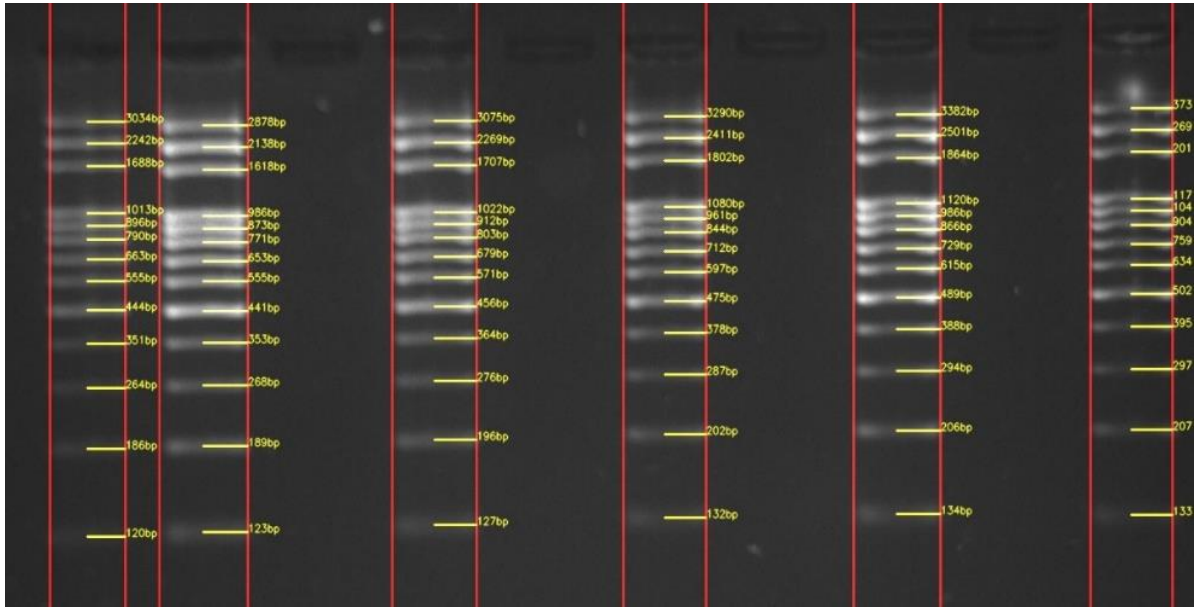
**Şekil 13.** Mini jel elektroforez kontrol yazılımı kullanılarak yapılan elektroforez işlemi band görüntüleri ile klasik elektroforez işlemi band görüntüleri.

Band görüntülerinin ortalama mutlak sapma hesabı için öncelikle tasarlanan sistem ile yapılan uygulama sonucunda oluşan görüntüden Şekil 13'deki 1 ve 2 nolu çerçevelerdeki bandlar seçilmiştir. 1 nolu çerçevede ilk bandın ortalama mutlak sapması 6.15 olarak hesaplanmıştır. İkinci seçilen bandın ortalama mutlak sapması 5.13 ve üçüncü seçilen bandın ortalama mutlak sapması 5.21 olarak hesaplanmıştır. Daha sonra klasik elektroforez işlemi sonucunda oluşan görüntülerden 2 nolu çerçevedeki bandların ortalama mutlak sapmaları sırasıyla 6.52, 5.50 ve 7.25 tir. Bulunan sonuçların "0" a yakınlıkları sırasıyla karşılaştırıldığında;

- $0 < 6.15 < 6.52$ olduğundan 6.15 değerli band değerine göre daha düzgündür;
- $0 < 5.13 < 5.50$ olduğundan 5.13 değerli band değerine göre daha düzgündür;
- $0 < 5.21 < 7.25$ olduğundan 5.21 değerli band değerine göre daha düzgündür;

şeklinde yorumlanabilir. Bu yorumlar sonucunda düşük değerli band görüntülerinin tasarlanan arayüz yazılımı ile kontrol edilen sistemin sonuçları olduğu ve sistemin klasik sisteme göre daha düzgün band görüntüleri oluşturduğu belirlenmiştir. Band görüntülerinin gömülü sistemde oluşturulan görüntü işleme yazılımı [22] ile bütünleştirildiğinde düzgün ve ölçülebilir bir şekilde ayrıldığı Şekil 14'te gösterilmektedir.

Python ile oluşturulan kontrol yazılımı ve bu yazılım ile kontrol edilen güç kaynağı devresi, giriş bölümünde belirtilen etkilerin oluşmasına neden olan gerilim ve zamana bağlı değerlerin işlem süresince sabit tutulmasını sağlamıştır. Böylece bandlarda gülümseme eğrisi, yayılım, kullanıcı kontrol ve band belirleme hataları gibi istenmeyen etkilerin oluşması engellenmiştir. Ayrıca SYBR Green boya kullanılarak daha güvenli bir uygulama yapılması sağlanmıştır. Gerilim değerinin yazılım ile hesaplanarak kontrol ekranında gösterilmesi ile kullanıcıya denetleme kolaylığı ve harici ölçme aletleri kullanımı sonucu oluşabilecek okuma hatalarının en aza indirilmesi; elektroforez işleminin zamanlama olarak istenilen sürede otomatik kontrollü yapılabilmesi sağlanmıştır.



Şekil 14. Jel görüntüsündeki bandların ve baz çifti sayılarının gömülü sistem görüntü işleme yazılımı ile elde edilmesi [19].

5. SONUÇ (CONCLUSION)

Bu çalışma ile jel elektroforez işleminde güncel teknolojilerin uyumu sağlanarak arayüz yazılımı ve otomatik çalışma özellikleri ile yeni bir kontrol sistemi geliştirilmiştir. Sistem ile kontrol edilen mini jel elektroforez güç kaynağı, günümüzde birçok gömülü sistem denetleyici ile uyumlu bir donanım yapısında oluşturularak kullanım kolaylığı sağlamış; klasik jel elektroforez sisteminden farklı olarak bütünleşik bir sistem şeklinde tasarlanmış ve uygulanmıştır. Oluşturulan mini jeldeki band görüntüleri UV ışığı

uygulanması ile elde edilmiş ve işlem sonunda elektronik ortama aktarımı sağlanmıştır. Ayrıca günümüzde çoğu biyomedikal cihazın ithal olarak temin edildiği göz önüne alındığında mini jel elektroforez uygulamaları için yerli ve düşük maliyetli bir sistem geliştirildiği yapılan araştırmalar ve deneysel uygulamalar ile belirtilmiştir.

Bu çalışma ile Python programlama dili kullanılarak oluşturulan mini jel elektroforez kontrol yazılımının elektroforez işlemi üzerinde sağladığı kolaylıklar ve geliştirilen kontrol yöntemlerinin elektroforez işlemi sonrasında jel üzerinde oluşan bandlarda gülümseme ve yayılma gibi istenmeyen sonuçların oluşmasını azalttığı görülmüştür. Gerilim kontrolü ve görüntülerin otomatik bir şekilde elektronik ortama alınabilme özellikleri ile kontrol yazılımının ve sistemin uygulanabilir olduğu belirtilmiştir.

TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGEMENTS)

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bilgi ve tecrübesi ile yardımlarını esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Reşit KAVSAOĞLU ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Kamil TURAN hocalarım ile deneylerin yapıldığı Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Genetik Laboratuvarı personeline teşekkürlerimi sunarım.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

- [1] Sharp, P.A., Sugden, B., Sambrook J., Detection of two restriction endonuclease activities in *Haemophilus parainfluenzae* using analytical agarose-ethidium bromide electrophoresis, *Biochemistry*, 12, (1973), 3055-3063
- [2] Kryndushkin, DS., Alexandrov, IM., Ter-Avanesyan MD., Kushnirov, VV., Yeast [PSI+] prion aggregates are formed by small Sup35 polymers fragmented by Hsp10, *Journal of Biological Chemistry*, 278, 2003.
- [3] Sambrook, J., Russel DW., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press 3rd Ed., Cold Spring Harbor, 2001.
- [4] Barril, P., Nates, S., "Introduction to agarose and polyacrylamide gel electrophoresis matrices with respect to their detection sensitivities", *Gel Electrophoresis-Principles and Basics*, InTech, (2012).
- [5] Hoagland, P. D., Programmable power supply for polyacrylamide gel electrophoresis, *Analytical biochemistry*, 26(1), 194-197, 1968.
- [6] Kadokami, Y., Takao, K., & Saigo, K., An economic "power supply" using a diode for agarose and polyacrylamide gel electrophoresis. *Analytical biochemistry*, 137(1), 156-160, 1984.
- [7] Walker, J. H., & Blair, G. E. (1989). Agarose gel electrophoresis of DNA using aluminium electrodes and a 12 volt mains adaptor as power supply unit. *Biochemical Education*, 17(3), 150-151
- [8] Dipa, S., Surati, J., Review On: Electrophoresis: Method For Protein Separation, *Pharma Science Monitor* 7(2), 192-203, 2016.
- [9] Gürsoy, E., Kapiler Elektroforez Ve Potansiyometrik Belirleme, Yüksek Lisans Tezi, Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 3-6, 2007.
- [10] Wenz, H. M., Robertson, J. M., Menchen, S., Oaks, F., Demorest, D. M., Scheibler, D., & Efcavitch, J. W., High-precision genotyping by denaturing capillary electrophoresis, *Genome Research*, 8(1), 69-80, 1998.
- [11] Barril, P., Nates, S., Introduction to agarose and polyacrylamide gel electrophoresis matrices with respect to their detection sensitivities, *Gel Electrophoresis-Principles and Basics*, InTech, 2012.

- [12] Maurye, P., Basu, A., Biswas, J. K., Bandyopadhyay, T. K., Electrophoresis-staining apparatus for DNA agarose gels with solution exchange and image acquisition, *Instrumentation Science & Technology*, 45(1), 49-61, 2017.
- [13] Reddy, R. P., Raju, N., Ed: Magdeldin, S., *Gel Electrophoresis-Principles and Basics*, Croatia: Intech Corp, 18-19, 2012.
- [14] Mersinkaya, İ., Kavsaoglu, A. R., Mini Gel Electrophoresis system based on embedded system, 26th Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU), İzmir, 1-4, IEEE, 2018.
- [15] İnternet: Arduino UNO, www.arduino.cc, 2019.
- [16] Mohan, N., Undeland, T. M., & William, P. Robbins, *Power Electronics–Converters. Applications, and Design* (3rd Edition), John Wiley & Sons Ltd, 2003.
- [17] İnternet: Smith, N., Nixie HV Switching PSU, <http://www.desmith.net/NMdS/Electronics/NixiePSU.html> , 2017.
- [18] Güler, N , Irmak, E . (2016), Mikrodenetleyici temelli sistemlerde dspic kullanımını ve örnek uygulama geliştirme süreci, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi Part C: Tasarım ve Teknoloji* , 4 (2) , 71-82.
- [19] Cambrex, (2007). “The Source Book: A Handbook for Gel Electrophoresis”, Cambrex Corp, Rockland, 42-49
- [20] Desai, P., (2015), *Python programming for Arduino*, Packt Publishing Ltd, 2.
- [21] Gorard, S., (2015), Introducing the mean absolute deviation ‘effect’ size, *International Journal of Research & Method in Education*, 38(2), 105-114.
- [22] Özkara, K., Kavsaoglu, A. R., (2019), Image processing on electrophoresis image with embedded system, *International Conference on Advanced Technologies, Computer Engineering and Science (ICATCES 2019)*, Alanya, pp. 61-62