



Nanopore Teknolojisi: Organik Moleküllerin Tek Moleküler Analizi ve Uygulamaları

Öznur Ölmez Nalcioğlu^{1*} 

¹Giresun Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Bölümü – Giresun - Türkiye

*Sorumlu yazar: oznur.olmez@giresun.edu.tr

MAKALE BİLGİSİ

Alınış tarihi: 31/10/2025

Kabul tarihi: 23/06/2026

Anahtar Kelimeler: *Biyolojik nanopore, İlaç güvenliği, Nanoplastik, Nanopore teknolojisi, PFAS, Tek moleküler analiz*

DOI: 10.55979/tjse.1814212

ÖZET

Tek moleküllerin algılanması, kimya, biyoloji, biyokimya, tıp, genetik, mühendislik, malzeme bilimi gibi birçok bilim alanında önemli bir araştırma odağıdır. Nanopore teknolojisi, moleküler boyutlu gözenek vasıtasıyla tek moleküllerin ultra hassasiyetle, hızlı ve uygun bir şekilde algılanmasında kullanılan yeni ve güçlü bir araçtır. Biyolojik nanoporlar iyonların, nükleik asitlerin, DNA'nın, RNA'nın, peptitlerin, proteinlerin, biyomoleküler komplekslerin, ilaçların, polimerlerin, makro moleküllerin ve organik moleküllerin tanımlanması ve ayırt edilmesinde potansiyel sunar. Cep telefonu boyutunda taşınabilir cihazlarla DNA dizilemesi artık laboratuvar dışında da hızlı ve ultra hassasiyetle yapılabilmektedir. Son yıllarda, nanopore teknolojisi; sağlığa ve çevreye zararlı moleküllerin su, toprak ve gıdalarda doğrudan tespit edilmesinde etkili bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bu yöntem yüksek hassasiyetli, ucuz, etiketsiz tespit imkânı, gerçek örneklerle çalışılabilme, hızlı ve kolay uygulanabilir yapısıyla alternatif yöntemler arasında öne çıkmaktadır. Bu derlemede, nanopore teknolojinin temelleri, tarihsel gelişimi, uygulama alanları ve organik moleküllerin tek moleküler analizine yönelik güncel çalışmalar ele alınmıştır. Biyolojik nanoporlar kullanılarak, günümüzde halk sağlığını ve çevreyi tehdit eden nanoplastikler, PFAS bileşikler, pestisitler, antibiyotikler ile kolluk kuvvetleri açısından kritik öneme sahip TNT, kokain gibi organik bileşiklerin algılanmasına yönelik araştırma örneklerine yer verilmiştir. Seçilmiş örnekler aracılığıyla biyolojik nanoporların çevre, gıda, tarım, güvenlik, farmakoloji, tıp ve halk sağlığı gibi geniş bir yelpazede uygulama potansiyeli vurgulanmıştır.

Nanopore Technology: Single-Molecule Analysis and Applications of Organic Molecules

ARTICLE INFO

Received: 31/10/2025

Accepted: 23/06/2026

Keywords: *Biological nanopore, Drug safety, Nanoplastics, Nanopore technology, PFAS, Single-molecule analysis*

DOI: 10.55979/tjse.1814212

ABSTRACT

Detecting single molecules is a crucial focus across many scientific fields, including chemistry, biology, biochemistry, medicine, genetics, engineering, and materials science. Nanopore technology is a new and powerful tool for identifying individual molecules with ultra-high sensitivity, speed, and affordability via molecular-sized pores. Biological nanopores offer potential for the recognition and differentiation of ions, nucleic acids, DNA, RNA, peptides, proteins, biomolecular complexes, drugs, polymers, macromolecules, and organic molecules. DNA sequencing can now be performed quickly and with ultra-high sensitivity outside the laboratory using portable devices roughly the size of a cellphone. Recently, nanopore technology has gained prominence as a valuable method for directly detecting harmful molecules in water, soil, and food that pose health and environmental risks. This method stands out among alternatives for its high sensitivity, low cost, label-free detection, applicability to real samples, and ease of use. This review covers the fundamentals of nanopore technology, its historical development, applications, and current research on single-molecule analysis of organic molecules. Using biological nanopores, research examples focus on detecting organic compounds that pose threats to public health and the environment today, such as nanoplastics, PFAS compounds, pesticides, antibiotics, and critical substances like TNT and cocaine, which are of particular interest to law enforcement. The application potential of biological nanopores in various fields, including the environment, food, agriculture, security, pharmacology, medicine, and public health, has been highlighted through selected examples.

1. Giriş

Nanoteknoloji terimi ilk kez Norio Taniguchi tarafından kullanılmış ve “Malzemelerin nanometre düzeyinde

mühendisliğe tabi olduğu teknoloji” olarak tanımlanmıştır. Nanoteknolojiyle ilgili araştırmaları yönlendiren kuruluş Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (NNI) nanoteknolojiyi “eşsiz olguların yeni uygulamalara olanak tanıdığı ve

maddenin kabaca 1 ila 100 nm boyutlarındayken anlaşılıp kontrol edildiği teknoloji” olarak tanımlar. Nanoteknoloji, küçük boyutların kazandırdığı benzersiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler sayesinde malzeme, yapı, cihaz ve sistemlerin tasarlanmasını ve işlevsel biçimde kullanılmasını içerir. Ayrıca nanoteknoloji, nanoölçekteki malzemelerin kullanımını sağlayan teknolojileri de kapsar (Fritz Allhoff vd., 2017).

Maddeyi moleküler ölçekte işlemek kimyasal etkileşimlere dairengin bilgi gerektirdiğinden, nanoteknoloji için kimya çok önemlidir (Fritz Allhoff vd., 2017). Nanoteknoloji ayrıca fizik, biyoloji, matematik, mühendislik, malzeme bilimi, biyomühendislik, çevre bilimi, tıp, eczacılık, yüzey bilimi gibi birçok disiplinden yararlanır (Dutta & Das, 2021; Ikumapayi vd., 2021; Mobasser Shariat & Firoozi Ali Akbar, 2016). Bununla birlikte kozmetik, ilaç, gıda, tarım, petrol, otomotiv, tekstil, enerji, uzay ve savunma gibi birçok endüstri alanında uygulamaları bulunmaktadır (Ikumapayi vd., 2021; Maagi vd., 2020; Mobasser Shariat & Firoozi Ali Akbar, 2016; Sahani & Sharma, 2021; Yetisen vd., 2016).

Nanoteknoloji, son 50-60 yılda geliştirilen nanopartiküller, nanorobotlar, nanojeller ve nanoporlar (nanogözenekler) gibi ürünlerle yeni bir teknolojik çağın başlamasını sağlamıştır. Bununla birlikte doğada nano ölçekteki yapılar, canlılığın başlangıcından beri mevcuttur. Geko kertenkelesinin pürüzsüz yüzeylere tırmanmasını sağlayan nano boyutlu ayak kılları, manyetotaktik bakterilerin yön bulmasını sağlayan biyolojik pusulalar ve hücrelerde hareketi sağlayan moleküler motorlar, doğanın nano düzeydeki işleyişine örnektir. Enzimler, kas lifleri ve DNA gibi moleküler makineler, canlı organizmaların yaşamını sürdürebilmesini sağlayan doğal nano boyutlu mekanizmalardır (Fritz Allhoff vd., 2017). Nanoteknoloji diğer pek çok teknoloji gibi doğadan esinlenerek gelişme göstermiştir. Doğanın 1–2 nm civarında çaplarda uzun süre açık kalan nanoporlar ürettiğinin farkına varılması, dirençli atış tekniği yoluyla moleküler algılamanın gelişmesine ilham vermiştir (Keyser, 2011).

Bu derlemenin amacı, nanopore teknolojisinin organik moleküllerin tek molekül düzeyinde analizindeki temel prensiplerini, tarihsel gelişimini ve güncel uygulamalarını bütüncül bir bakış açısıyla ele almaktır. Ayrıca, nanopore teknolojisinin moleküler düzeyde gerçekleşen etkileşimlerin gerçek zamanlı ve etiketsiz biçimde izlenebilmesini sağlayarak temel bilimlerden uygulamalı tanı sistemlerine kadar uzanan geniş bir yelpazede sahip olduğu dönüştürücü potansiyelin ortaya konulması hedeflenmiştir.

1.1. Nanopore temelli teknoloji

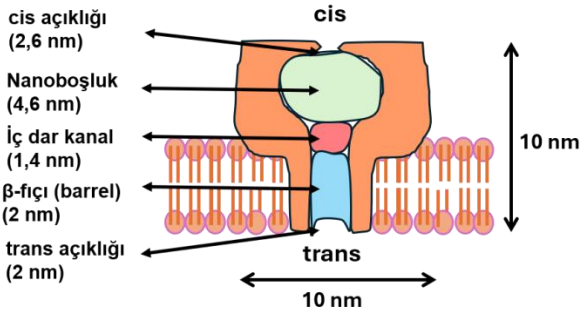
Nanoteknoloji, farklı alanlarda teknolojik araştırmalara yön vererek öncü yöntemlerin gelişmesine olanak sağlamıştır. Nanoteknolojinin en etkili olduğu alanlardan biri nanopore teknolojisidir. Nanoporlar, biyosensör olarak işlev görerek nanomoleküllerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin anlaşılabilmesi için kullanılan önemli bir araçtır. Nanopore aracılığı ile gerçekleşen

molekül translokasyonu, nanoporların özgün geometrisiyle gözenek yüzeyi ve molekül arasındaki güçlü ara yüzey etkileşimleri sayesinde, diğer yöntemlere göre yüksek seçicilikle ve üstün performansla gerçekleşir (Yılmaz, 2017).

Nanopore teknolojileri genel olarak iki kategoriye ayrılabilir: Biyolojik nanoporlar ve katı-hal nanoporlar. Bu iki nanopore teknoloji yöntemlerinin kendilerine özgü avantajları ve uygulama üstünlükleri bulunmasıyla birlikte, bu derleme çalışmasında biyolojik nanopore sistemleri ile ilgili yapılan uygulamalara odaklanılmıştır. Biyolojik nanoporlar, yüksek tekrarlanabilirliğe ve iyi tanımlanmış geometriye sahiptirler (Feng vd., 2015). Daha da önemlisi, biyolojik nanoporların özellikleri biyomühendislik ile değiştirilebilmesi, dolayısıyla özel analitlerin algılanması için özelleştirilebilmesi, belirli bir bölgedeki amino asit kalıntısını değiştirmek için nükleotid dizisini mutasyona uğratmak gibi modern moleküler biyoloji teknikleriyle kolayca değiştirilebilmesi avantajlarına sahiptirler (Josip Ivica, 2018). Bununla birlikte, biyolojik nanoporlar; sınırlı gözenek boyutları nedeniyle büyük protein komplekslerinin (özellikle katlanmış proteinlerin) translokasyonuna izin vermemeleri (Houghtaling vd., 2018; Mayer vd., 2022), lipit membranların biyolojik örneklerle karşı hassas ve fiziksel olarak dayanıksız olabilmeleri (Howorka & Siwy, 2009), özellikle yüksek bant genişliklerinde membran kapasitansından kaynaklanan yüksek akım gürültüsü üretmeleri (Houghtaling vd., 2018) ve deney öncesinde lipit membranın hazırlanması ile gözeneklerin bu membrana yeniden yapılandırılmasını gerektirmeleri (Howorka & Siwy, 2009) gibi dezavantajlara sahiptir. Katı-hal nanoporlar ise silikon nitrür, cam veya grafen gibi dayanıklı malzemelerden üretilibilmeleri sayesinde yüksek mekanik kararlılık sunarlar ve 1–100 nm arasında ayarlanabilir gözenek boyutlarıyla büyük amiloid agregatları da dahil olmak üzere geniş bir analiz yelpazesinin tanımlanmasına olanak sağlar (Howorka & Siwy, 2009; Houghtaling vd., 2018; Mayer vd., 2022). Ayrıca DNA iskeleleri veya aptamerlerle fonksiyonelleştirilerek seçicilik ve sinyal kalitesi artırılabilir (Mayer vd., 2022; Wang vd., 2024). Grafen gibi 2D malzemelerden üretilen gözenekler atomik incelikleri sayesinde alt nanometre çözünürlük sağlayabilmektedir (Gu & Shim, 2010; Howorka & Siwy, 2009). Bununla birlikte katı-hal nanoporlarda protein adhezyonu ve gözenek tıkanması (Houghtaling vd., 2018), analitlerin çok hızlı translokasyonu (Mayer vd., 2022) ve yüksek kapasitansa bağlı elektriksel gürültü gibi sınırlılıklar bulunmaktadır. Genel olarak biyolojik nanoporlar küçük moleküller için yüksek hassasiyet ve tekrarlanabilirlik sunar (Gu & Shim, 2010; Mayer vd., 2022), katı-hal nanoporlar dayanıklılıkları ve geniş boyut aralıkları sayesinde daha büyük yapıların analizi için avantaj sağlamaktadır (Howorka & Siwy, 2009; Mayer vd., 2022).

1.2. Biyolojik nanoporlar

Biyolojik nanoporlar ile ilgili çalışmaların temelleri Hagan Bayley tarafından 1980'lerde membran protein olarak α -Hemolizin (α -HL)'in montaj mekanizmasını anlamaya yönelik temel biyofiziksel araştırmalarla başlamıştır (Bayley, 2015). α -HL, bir insan patojeni olan *Staphylococcus aureus* bakterisi tarafından salgılanan bir ekzotoksindir ve yedi özdeş polipeptidin kendiliğinden birleşmesiyle oluşan bir yapıdır. Mantar şeklindeki heptamerik α -HL gözenegi, bir lipit çift tabaka içinde 14 iplikçikli bir transmembran β -fiç (barrel) ve membran dışında konumlandırılan daha büyük bir kapak bölgesinden oluşur (Howorka & Siwy, 2009). Gözenegin dış boyutları 10x10 nm'dir. Cis girişi 2.6 nm çapında, trans girişi çapı ise 2 nm'dir. Gözenek içinde 2 nm çapında transmembran β -fiç, β -fiçin üzerinde 4.6 nm'lik bir iç boşluk, β -fiç ile iç boşluk arasında 1.4 nm çapında dar bir kanal bulunur (Gu & Shim, 2010). Lipit çift tabakasındaki heptamerik α -HL nanopore enine kesit görünümü ve gözenek lümenindeki çeşitli bölgelerin boyutları Şekil 1'de gösterilmiştir. Bayley tarafından yapılan öncü çalışmalar sonrasında biyolojik nanoporlar moleküler tanıma ve tek molekül analizlerine uygulanmasını sağlamıştır.



Şekil 1. Lipit çift tabakasındaki heptamerik α -HL nanopore enine kesit görünümü ve gözenek lümenindeki çeşitli bölgelerin boyutları; iç boşluk (yeşil), iç dar kanal (kırmızı) ve β -fiç (mavi). (Gu & Shim, 2010) ve (Howorka & Siwy, 2009)'dan modifiye edilerek yeniden çizilmiştir.

Figure 1. Cross-sectional view of the heptameric α -HL nanopore in the lipid bilayer and the dimensions of various regions within the pore lumen; inner cavity (green), inner narrow channel (red), and β -barrel (blue). Redrawn with modifications from (Gu & Shim, 2010) and (Howorka & Siwy, 2009).

α -HL'nin daralması, moleküler saptama için büyük önem taşır; çünkü 1.4 nm'den büyük çapa sahip moleküller gözenek boyunca yer değiştiremezler. Örneğin, çift sarmallı DNA (dsDNA), çapı 2 nm olduğu için α -HL gözenek boyunca yer değiştiremezken, tek sarmallı DNA (ssDNA) çapı yaklaşık 1 nm olduğundan geçebilir. α -HL'nin bu yapısal özelliği sayesinde, Kasianowicz vd. ssDNA translokasyonu ile moleküler tanımlamayı ilk olarak gerçekleştirmişlerdir (Kasianowicz vd., 1996). α -HL protein gözeneginden ssDNA translokasyonunu gösteren bu öncü çalışma, on yıldan daha uzun zamandır nanoporlu tek molekül bilimine ilham vermiştir (Movileanu, 2009). Biyolojik nanoporlar, DNA dizileme, hastalık teşhisi, ilaç taraması, çevre izleme ve moleküler

makinelere yapımı dahil olmak üzere çok çeşitli tek molekül analizi üzerinde ultra hassas sensörler olarak kullanılmıştır (Ying vd., 2014). Nanopore teknolojilerinde kullanılan diğer biyolojik nanoporların çoğu bakteriler tarafından salgılanır ve gözenek oluşturan toksinler ailesine aittir. Transmembran proteinler olduklarından, işlevselliğini geri kazanmak için biyolojik bir membran ortamına ihtiyaç duyarlar. Biyolojik nanoporlar genellikle düzlemsel lipit çift katmanları, lipozomlar veya diğer polimer filmler gibi bir substrata yerleştirilir.

Bayley tarafından ilk kullanılan α -HL dışında günümüze kadar farklı biyolojik nanoporlar tek moleküler analizlerde kullanılmıştır (Mayer vd., 2022).

Nanopore teknolojisinde kullanılan biyolojik nanoporlar

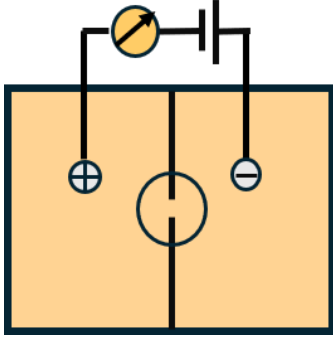
- α -Hemolizin (α -HL)
- *Mycobacterium smegmatis* porin A (MspA)
- Phi 29
- Cytolysin A (ClyA)
- Aerolysin (AeL)
- OmpG
- Fragaceatoxin (FraC)
- SP1
- T7
- SPP1
- CsgG
- *Escherichia coli*'den, Pleurotolysin A ve B iki komponent mühendisliği (PlyAB)

2. Nanopore Teknolojisinin Temel Prensipleri

2.1. Nanopore temelli teknolojinin kaynağı

Nanopore dirençli atış taraması (NRPS), bir molekülün nanopore kanalıyla etkileşimi üzerine ürettiği iyonik akım veya dirençli atıştaki azalmaya dayalı molekülleri tespit edebilen bir tekniktir (Josip Ivica, 2018).

Nanopore teknolojisinin temelini daha önceki yıllarda uygulanan iki önemli teknik oluşturur. Bunlardan biri olan Coulter sayımı tekniği, kan hücrelerinin profillerinin çıkarılması için Wallace H. Coulter tarafından geliştirilmiştir ve 1953 yılında patentini almıştır. Diğeri ise 1970'li yıllarda çığır açan tek-kanallı akım kaydı (single-channel current recording) teknikleridir. Coulter sayımı tekniği, elektrolitlerdeki bakteri, virüs ve prokaryotik hücreleri tespit etmek için kullanılan klasik bir yöntemdir (Josip Ivica, 2018). Coulter sayımında, mikro ölçekli nesnelere bir delikten geçer ve delik boyunca akan iyonik akım akışında tespit edilebilir bir kısa değişime neden olur. Şekil 2'de şematik olarak gösterildiği gibi, tipik bir Coulter sayacı, bir mikro ölçekli delik yoluyla birbirine bağlanan iki elektrolit dolgululu hücrelerden oluşur (Howorka & Siwy, 2009).



Şekil 2. Coulter sayımı ve nanopore analizinin prensibini gösterim şekli. (Howorka & Siwy, 2009)'den modifiye edilerek yeniden çizilmiştir.

Figure 2. Schematic representation of the principle of Coulter counting and nanopore analysis. Redrawn with modifications from (Howorka & Siwy, 2009).

Coulter sayacı yöntemini nanoporlara uyarlamak, tek-kanallı akım kaydı tekniğini uygulayarak mümkün olmuştur. Tek-kanallı akım kaydı orijinal olarak, doğal lipid çift katmanlı membranlara gömülü bireysel membran iyon kanallarını karakterize etmek için geliştirilmiştir. İyon kanalları, dar lümeni özellikle küçük inorganik iyonları zarın bir tarafından diğer tarafına geçirebilen karmaşık biyolojik yapılardır (Howorka & Siwy, 2009). Çoğu iyon kanalları, kimyasal, elektriksel veya mekanik uyarılara (voltaj, Ca^{2+} veya nörotransmitterler gibi) yanıt olarak açılıp ve kapanarak iyon akışını da kontrol edebilen transmembran protein gözenekleridir (Gu & Shim, 2010; Howorka & Siwy, 2009). Örneğin, bir sinir hücresi üzerindeki zara bağlı nikotik asetilkolin reseptörü, belirli bir nöral vericinin tanıma alanına bağlanmasıyla açılabilir. Açık durumdaki bir protein kanalı, uygulanan bir transmembran voltajı altında hücre membranı boyunca iyonları seçici olarak taşıyabilir ve elektriksel olarak ölçülebilen bir piko-Amper iyon akımı oluşturabilir. Protein mühendisliği yoluyla, açık bir gözenek ihtimali ile bir uyarının yoğunluğu arasında ilişki kurulabilir. Bu tür tasarlanmış protein gözenekleri, hedefe duyarlı biyosensörler olarak işlev görebilir. Nanometre ölçeğindeki gözenek boyutu nedeniyle, tasarlanmış protein gözeneği aynı zamanda "nanopore" olarak da adlandırılır (Gu & Shim, 2010).

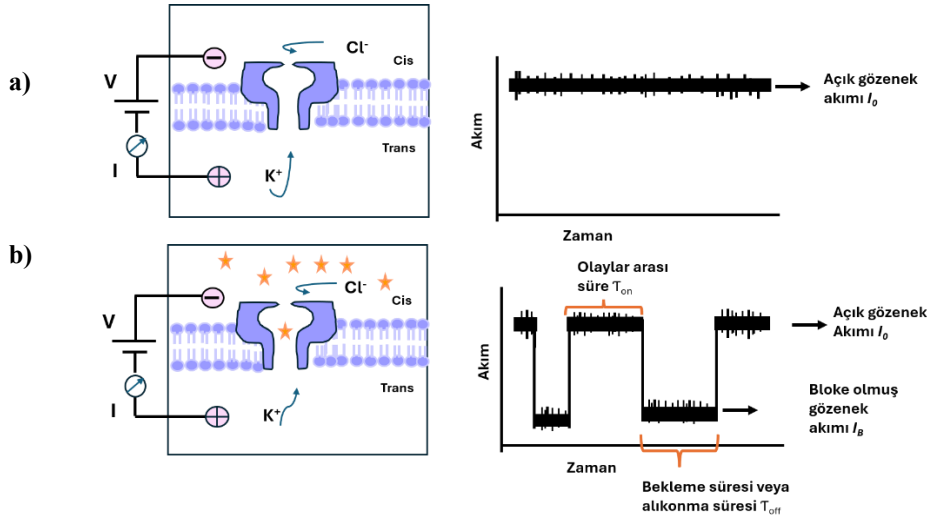
Nanopore analizi, biyolojik iyon kanallarıyla algılamadan farklıdır. İlk olarak, biyolojik nanoporlar genellikle yapay membranlar yeniden düzenlenir veya inorganik madde ya da organik polimerlerden oluşan biyolojik olmayan membranlardan oluşturulur. Dahası, nanoporlardaki akım değişimleri sterik veya elektrostatik etkiler yoluyla doğrudan analit molekülleri neden olur. Bunun tersine, biyolojik kanalların blokajları, analitlerin spesifik bağlanmasıyla neden olduğu kanal yapısındaki konformasyonel değişikliklerin dolaylı mekanizmasına dayanır. En önemlisi, nanoporlar genellikle "boştur" ve

özgüllükle moleküllere bağlamak için herhangi bir yapısal yeteneğe sahip değildir. Analitler, spesifik moleküllere bağlanma doğasıyla tasarlanmış biyolojik gözeneklerle tespit edilebilirken, genellikle boş gözenekleri kullanmak avantajlıdır. Boş gözenekler yapay bağlama bölgeleri ile donatılabilir ve bu nedenle geniş bir analit yelpazesi için ayarlanabilir. Tasarlanmış gözenekler, yapay tanıma alanına bağlanan molekülleri tespit eder (Howorka & Siwy, 2009).

2.2. Nanopore temelli teknolojinin prensibi

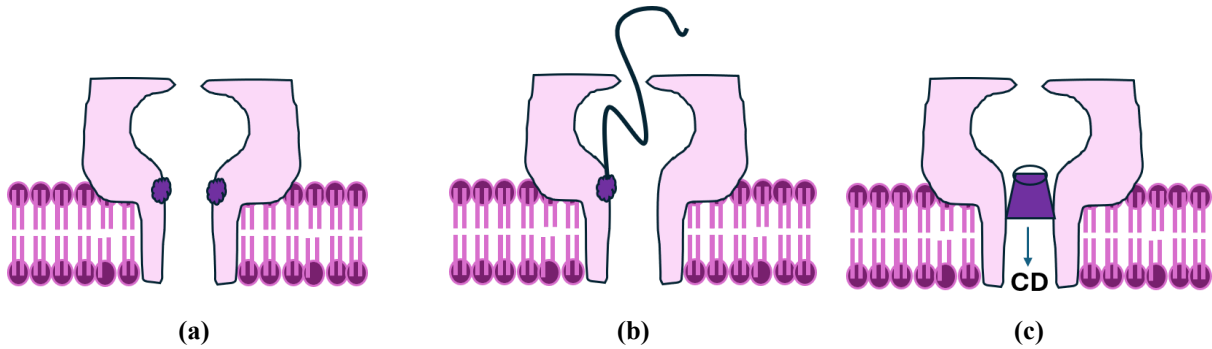
Nanopore teknolojisinde kullanılan düzenek, cis ve trans olarak adlandırılan iki elektrolit dolgulı bölmeden oluşur (Şekil 3). Cis ve trans isimleri, cisin hücre dışı tarafla ilişkili olduğu ve transın, membranın hücre içi tarafı ile ilişkilendirildiği elektrofizyolojik iyon kanalı kaydından alınmıştır. Cis ve trans hücreler bir yalıtım membranı ile birbirinden ayrılır. Yalıtım membranı üzerinde nanometre boyutunda gözenekler bulunur. Bu nanoporlar ya bir biyolojik membran içine gömülüdür ya da katı-hal filmde oluşturulur. Yalıtım membranıdaki gözenek, bölmeler (cis-trans) arasında iyonların ve analit molekülünün yalıtım membranıdan translokasyonunu sağlayan tek bağlantı görevi görür (Gu & Shim, 2010; Feng vd., 2015; Josip Ivica, 2018).

Nanopore sistemindeki potansiyel farkı, her bölmeye yerleştirilen iki elektrot aracılığıyla uygulanır. Genellikle cis bölmesi topraklama elektrotunu tutarken, trans bölmesi potansiyeli sisteme uygulayan çalışma elektrotunu içerir. Nanopore sisteme sabit bir potansiyel uygulandığında, iyonların gözenek boyunca elektroforetik hareketine neden olur, böylece bir iyonik akım sinyali üretir. Gözenek, cis bölmesine eklenen küçük organik molekül (analit) tarafından bloke edildiğinde gözenek içerisindeki iyon akımı akışı kesintiye uğrar. Bu akım blokajlarına (tıkanmalarına) dirençli atışlar (resistive pulses) denir (Josip Ivica, 2018). Hedef moleküllerin fiziksel ve kimyasal özellikleri, translokasyon olaylarından kaynaklanan geçici akım blokajlarının genliği ve süresi istatistiksel olarak analiz edilerek hesaplanabilir. Etkileşim bittikten sonra, gözenek akımı, başka bir analit molekülü kanalı tekrar işgal edene kadar açık değer akımına geri döner. Dirençli atışların oluşumu, çözeltideki analit konsantrasyonu ile ilişkilidir, yani daha fazla sayıda atış, daha yüksek analit konsantrasyonu anlamına gelir (Josip Ivica, 2018).



Şekil 3. Nanopore temelli teknolojinin prensibi. (a) Çözeltide analit molekülü olmadığında uygulanan gerilime yanıt olarak açık gözenek akımı I_o gözlenir (b) Molekülün ya da iyonun nanopordan translokasyonu sırasında blokaj, iyonik akımda geçici değişimlere neden olur. Josip Ivica (2018)'den modifiye edilerek yeniden çizilmiştir.

Figure 3. Principle of nanopore-based technology. (a) In the absence of an analyte molecule in the solution, an open-pore current I_o is observed in response to the applied voltage. (b) During the translocation of a molecule or ion through the nanopore, the blockade causes transient changes in the ionic current. Redrawn with modifications from Josip Ivica (2018).



Şekil 4. α -HL nanoporun modifikasyon yöntemlerinin temsili gösterimi a) Mutajenez olarak b) Kimyasal reaksiyonlarla c) Kovalent olmayan etkileşimle Bayley & Jayasinghe (2004)'den modifiye edilerek yeniden çizilmiştir.

Figure 4. Schematic representation of the modification methods for the α -HL nanopore: a) via mutagenesis, b) via chemical reactions, c) via non-covalent interactions. Redrawn with modifications from Bayley & Jayasinghe (2004).

Bu nedenle, bir gözenekle analit etkileşiminin karakterizasyonu üç parametre ile ölçülür.

Bu parametreler:

- Analit gözenek etkileşiminin süresi, bekleme süresi veya alıkonma süresi (dwell time) (T_{off})
- İki direnç atışı arasındaki olay arası süresi (T_{on})
- I_o Herhangi bir analit yokken ölçülen açık gözenek akımı
- I_b analit molekülü gözenek içindeyken ölçülen bloke olmuş akım

$$\Delta I = I_o - I_b ; \text{akım blokajı (Wei vd., 2020)}$$

$$\frac{\Delta I}{I_o} = \frac{I_o - I_b}{I_o} ; \text{bağıl akım blokaj derinliği (Fan vd., 2024)}$$

Analit gözenek etkileşimi ile ilişkili dirençli atışlar rastgele meydana gelir, bu nedenle nanopore genellikle bir

stokastik sensör olarak tanımlanır (Feng vd., 2015; Josip Ivica, 2018).

Moleküllerin biyolojik nanopordan translokasyonu ile iyonik akım bloke olur. Nanopore içinden geçen farklı moleküller, iyonik akım miktarını etkileyerek iyonik akımda meydana gelen değişikliklerle tanımlanabilir (Akyol vd., 2017). Nanopore teknoloji sayesinde tek moleküllerin analizlerine yönelik birçok araştırma olmasına rağmen, bazı moleküllerin bu yöntemle ayırt edilebilmesi ve tanımlanmasında hala bazı zorluklar ortaya çıkmaktadır. Kullanılan biyolojik nanoporun gözenek boyutunun tanımlanması yapılacak moleküle göre büyük olması algılamayı engelleyebilir. Elektriksel darbe sinyallerinin yüksek sinyal-gürültü oranını (SNR) elde etmek için, seçilen gözenek çapının test molekülleriyle karşılaştırılabilir olması gerekir (R. Wang vd., 2024). Bununla birlikte, küçük moleküller için uygun olan küçük gözenek de ultra hızlı translokasyona yol açabilir (Wang vd., 2024). Moleküllerin gözenek içinden hızlı

translokasyonu biyolojik nanoporlar arasında kısa süre etkileşimine (alıkonma süresinin azalmasına) neden olabilir ve molekülün nanopore tarafından hassasiyetle algılanmasını engelleyebilmektedir.

Küçük moleküllerin tespitinde seçiciliği ve hassasiyeti artırmak amacıyla biyolojik nanoporlar için sinyal yükseltme stratejisi, nanopore yapısında modifikasyon yapmaktır. Biyolojik nanoporların birçoğunun β -fiçli (barrel) yapıları X-ışını ile belirlenmiştir, yeniden tasarlanmaya uygundur, yapısal modifikasyona ve zorlu saflaştırma koşullarına karşı dayanıklıdır (Bayley & Jayasinghe, 2004; Howorka & Siwy, 2009). Modifiye biyolojik nanopore oluşturmasıyla analitler için yapay bağlanma bölgelerinin ortaya çıkarılması sağlanır (Howorka & Siwy, 2009).

Biyolojik nanoporların modifikasyonu 3 farklı yöntemle yapılabilir. Bu yöntemler;

- i) Mutajenez olarak (Şekil 4a),
- ii) Kimyasal reaksiyonlarla (Şekil 4b)
- iii) Kovalent olmayan supramoleküler yapılarla gerçekleştirilir (Şekil 4c) (Gyurcsányi, 2008).

Örneğin, konak moleküllerin protein kanalına gömülmesi kararlılığı artırabilir. Siklodekstrin, kaliksarenler, cucurbituril vb. gibi halka moleküllerin eklenmesi, yüksek uzaysal kararlılığa sahip daha küçük bir kanal oluşturacak ve kanal içindeki konak-konuk tanıma modeli, sinyal kararlılığını iyileştirmek için moleküllerin alıkonma süresini artıracaktır (Wang vd., 2024; Ying vd., 2014).

Biyolojik nanopore olan α -HL nanoporunun modifikasyon örnekleri Şekil 4'te gösterilmiştir. Şekil 4a'da gözenek lümeninin en dar kısmına yakın 14 arjinin halkaları yerleştirilmiştir (Bayley & Jayasinghe, 2004). Şekil 4b'de gözenek lümeninin belirlenen bölgesine (pozisyon 106) polietilen glikol (PEG) zinciri kimyasal olarak bağlanmıştır (Movileanu vd., 2000). Şekil 4c' de siklodekstrin (CD) ile kovalent olmayan supramoleküler etkileşim sağlanmıştır (Gu vd., 1999). Nanopore iç dar kanal yüzeyinin modifikasyonu biyolojik nanoporların çaplarının ayarlanabilmesine ve gözenek içinden geçen molekülün translokasyon süresini kontrol etmeye olanak vermektedir.

α -HL Nanopore-Molekül Etkileşimini Belirleyen Fiziksel ve Kimyasal Parametreler: α -Hemolysin (α -HL) nanoporunun yaklaşık 1.3-1.4 nm iç dar kanalı literatürde iyi tanımlanmış olsa da bir molekülün gözenek içinden translokasyonunu yalnızca bu değere bağlı değildir. Gerçek geçirgenlik; molekülün fiziksel özellikleri, kimyasal etkileşimleri ve deneysel koşulların birlikte oluşturduğu çok boyutlu bir etkileşim alanı tarafından şekillenir. Bu kapsamda α -HL'de molekülün gözenek içinden translokasyonunu belirleyen parametreler aşağıdaki başlıklar altında özetlenmiştir.

i) Molekülün Esnekliği ve Konformasyonu: Molekülün konformasyonel esnekliği, gözenek içindeki ilerleyişini ve akım blokajının karakterini doğrudan etkiler. Esnek moleküller gözenek içinde farklı şekiller olarak blokaj

derinliğini ve alıkonma zamanı değerlerini değiştirirken, daha rijit moleküller daha öngörülebilir bir blokaj oluşturur. Houghtaling vd., akım sinyalinin yalnızca hacme değil, aynı zamanda molekülün şekline ve rotasyonel difüzyonuna bağlı olduğunu rapor etmişlerdir (Houghtaling vd., 2018). Benzer şekilde Mayer vd., konformasyonel özelliklerin akım modülasyonunda belirleyici olduğunu vurgulamışlardır (Mayer vd., 2022).

ii) Yük Dağılımı ve Elektrostatik Etkileşimler: Analitin yük dağılımı ile gözenek duvarındaki yüklerin etkileşimi hem yakalanma olasılığını hem de gözenek içindeki hareketini belirler. α -HL'de akım modülasyonlarının yalnızca sterik etkiyle değil, aynı zamanda elektrostatik etkileşimlerle de oluştuğu bilinmektedir (Howorka & Siwy, 2009). Gözenek duvarındaki yük yoğunluğu, elektroosmotik akışın (EOF) büyüklüğünü belirleyerek analitin gözenek giriş yönünü ve hızını etkiler (Mayer vd., 2022). Bu nedenle analitin net yükü, yük dağılımı ve çözeltideki iyonik ortam, geçirgenlik davranışının temel belirleyicileridir.

iii) Hidrodinamik Çap ve Hacim Dışlama: Molekülün hidrodinamik yarıçapı, gözenek içindeki iyon akışını ne ölçüde yer değiştirdiğini belirler. Akım blokajının yalnızca geometrik hacme değil, aynı zamanda hidrodinamik boyut ve difüzyon katsayısına bağlı olduğunu açıklanmıştır (Houghtaling vd., 2018). Büyük hidrodinamik yarıçapa sahip moleküller daha derin blokajlar oluştururken, küçük moleküller daha kısa ve sık blokajlar üretir. Bu nedenle hacim dışlama etkisi, α -HL'nin seçiciliğinde temel bir fiziksel parametredir.

iv) Deneysel Koşullarının Etkisi (Viskozite, Sıcaklık, Tuz ve pH): Deneysel koşulları, nanopore transportunun hem hızını hem de sinyal kalitesini belirler. Asimetrik tuz koşulları yakalanma frekansını artırabilir; örneğin Li^+ iyonları ssDNA gibi analitlerin yakalanmasını ve alıkonma zamanını değiştirebilir (Mayer vd., 2022). pH, gözenek duvarı ve analit üzerindeki yük dağılımını değiştirerek elektrostatik etkileşimleri yeniden şekillendirir (Mayer vd., 2022). Çözelti viskozitesinin artması translokasyon hızını düşürür ve sinyal çözünürlüğünü artırabilir (Houghtaling vd., 2018). Sıcaklık artışı, iyon hareketliliğini artırarak akım genliğini yükseltir; ancak aynı zamanda 1/f gürültüsü, atım gürültüsü (shot noise) ve dielektrik gürültüsü gibi bileşenleri artırarak SNR'yi düşürebilir (Houghtaling vd., 2018). Bu nedenle sıcaklık hem sinyal kalitesini hem de analitin gözenek içindeki davranışını belirleyen kritik bir parametredir.

v) Voltajın Etkisi: Uygulanan voltaj, analitin gözenek içindeki hareketini yönlendiren temel kuvvettir. Voltaj arttıkça elektroforetik kuvvet büyür ve analitin daha hızlı translokasyona neden olur; ancak bu durum alıkonma zamanının kısalmasına ve sinyal çözünürlüğünün azalmasına yol açabilir (Mayer vd., 2022). Ayrıca yüksek voltaj, membran kararlılığını olumsuz etkileyerek gürültü seviyesini artırabilir Uygulanan gerilim 200-300 mV civarına ulaştığında, membran elektriksel delinme ve yırtılma/kopma riskiyle karşı karşıya kalır. Bu durum biyolojik sistemlerde sinyal gücünü artırmak için yüksek

voltaj kullanımını kısıtlayan temel bir faktördür (Fragasso vd., 2020). Bu nedenle voltaj hem sinyal kalitesi hem de analit davranışı açısından dikkatle optimize edilmesi gereken bir parametredir.

Sensör Performansını Etkileyen Faktörler: Nanopore teknolojisinde sensör performansı; gürültü kaynaklarının yönetimi, donanımsal iyileştirmeler ve gelişmiş veri analiz yöntemleri gibi birbirine bağlı birçok fiziksel ve analitik faktörden etkilenir (Houghtaling vd., 2018; Mayer vd., 2022). Sensör performansını etkileyen temel faktörler:

i) SNR; sensör duyarlılığının temel belirleyicisidir. Düşük frekanslı 1/f gürültüsü protonasyon–deprotonasyon süreçleri ve gözenek yapısındaki küçük konformasyonel değişimlerden kaynaklanırken, yüksek frekanslarda kapasitif ve dielektrik gürültü baskın hale gelir (Mayer vd., 2022). SNR'nin artırılması için voltaj yükseltmek mümkün olsa da membran kararlılığı açısından sınırlayıcıdır; ayrıca analit hacmi ile gözenek hacmi arasındaki uyum kritik olup, gözenekten 1000 kat daha küçük moleküllerin tespiti mümkün değildir (Houghtaling vd., 2018).

ii) Filtreleme ve donanım performansı; sensörün ölçüm doğruluğunu doğrudan etkiler. 50/60 Hz hat gürültüsünü bastıran elektriksel filtreleme modülleri deneysel kurulumun kararlılığını artırırken, yüksek bant genişliğine sahip amplifikatörler mikro saniye ölçeğindeki hızlı translokasyon olaylarının yakalanmasını sağlar (Gu & Shim, 2010; Houghtaling vd., 2018; Wang vd., 2024). Düşük kapasitanslı çip tasarımları ve entegre tamamlayıcı metal-oksit-yarıiletken (CMOS) amplifikatörleri ise yüksek frekanslarda SNR'yi belirgin biçimde iyileştirir.

iii) Veri analizi yöntemleri, nanopore teknolojisinin ayırt ediciliğini belirleyen analitik katmandır. Akım izlerinden etkinlik çıkarımı, blokaj derinliği (I/I_0) ve alıkonma süresi (T_{off}) eşiklerine dayalı olarak yapılır ve bu segmentasyon daha ileri sınıflandırma adımlarının doğruluğunu belirler (Mayer vd., 2022). Çok boyutlu parmak izi yaklaşımı, tek bir geçişten hacim, yük, dipol momenti ve rotasyonel difüzyon gibi parametrelerin eşzamanlı değerlendirilmesine olanak tanır (Houghtaling vd., 2018). Buna ek olarak, derin öğrenme tabanlı sınıflandırma ve moleküler dinamik simülasyonları hem sinyal yorumlamada hem de translokasyon mekanizmalarının anlaşılmasında modern nanopore analizinin vazgeçilmez araçlarıdır (Mayer vd., 2022; Wang vd., 2024).

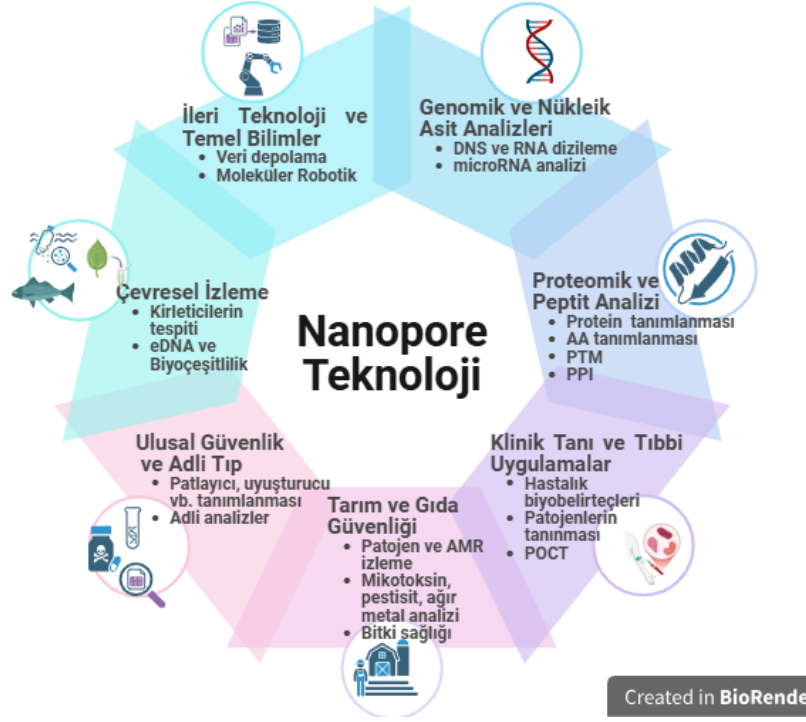
Yapay Zekâ (YZ) ve Makine Öğrenimi Tabanlı Nanopore Sinyal Analizi (Kısa Genel Bakış): Bu faktörlere ek olarak, YZ ve makine öğrenimi tabanlı sinyal analizindeki son gelişmeler, özellikle olay tespiti doğruluğunu artırarak ve gürültüyü azaltarak ham nanopore sinyallerinin yorumlanmasını önemli ölçüde iyileştirmiştir. Derin öğrenme tabanlı baz çağırma araçları (Guppy, Bonito, Dorado) ve hata düzeltme modelleri (Medaka, NanoReviser), tek okuma doğruluğunu %97–99 seviyelerine taşımıştır (Chen vd., 2023; Gao vd., 2026). Ham sinyallerin doğrudan sınıflandırılmasına yönelik modellerden SquiggleNet, DNA kaynaklarını gerçek zamanlı ayırt edebilmekte ve analiz süresini belirgin biçimde kısaltmaktadır (Gao vd., 2026).

Epigenetik ve protein analizinde YZ tabanlı yaklaşımlar, DNA metilasyonlarının yüksek doğrulukla tespit edilmesini ve amino asitlerin MspA gözeneklerinde %98'in üzerinde doğrulukla tanımlanmasını mümkün kılmaktadır (Cressiot vd., 2020; Gao vd., 2026). Klinik ve adli uygulamalarda ise makine öğrenmesi, veri yorumlama süreçlerini otomatikleştirerek operatör bağımlılığını azaltmakta ve sonuçların tutarlılığını artırmaktadır (Gao vd., 2026; Houghtaling vd., 2018).

Genel olarak bu yaklaşımlar, düşük SNR gibi temel sınırlılıkları aşarak nanopore verilerinin gerçek zamanlı, yüksek doğruluklu biyoinformatik çıktılara dönüştürülmesini sağlamaktadır (Chen vd., 2023; Mayer vd., 2022).

3. Nanopore Teknolojisinin Uygulamaları

Nanopore teknolojisinin uygulama alanları Şekil 5'de verilmiştir (Gu & Shim, 2010; Chen vd., 2023; Zhang vd., 2025; Kim vd., 2026). Tek moleküllü algılama teknolojileri olarak nanoporlar, iyonların, nükleik asitlerin, DNA'nın, RNA'nın, microRNA'nın, peptitlerin, proteinlerin, biyomoleküler komplekslerin, ilaçların, polimerlerin, makro moleküllerin ve küçük moleküllerin analizi gibi birçok alanda büyük potansiyel uygulamalara sahiptir (Howorka & Siwy, 2009; Feng vd., 2015). Nanoporlar, analitik bir araç olmanın yanı sıra, basit moleküllerin biyofiziğini, fizikokimyasını ve kimyasını araştırmak için genel bir platform teknolojisi haline gelmiştir (Howorka & Siwy, 2009). Nanopore dizileme (sekanslama) teknolojisi kullanılarak, tek bir DNA veya RNA molekülü, PCR (Polymerase Chain Reaction) amplifikasyonuna veya kimyasal etiketlenmesine gerek kalmadan dizilebilmektedir. Nanopore temelli nükleik asit dizileme teknolojisi, tek baz ayırma duyarlılığı, etiketsiz tanımlama ve uzun okuma kapasitesi ile başarılı bir şekilde ticarileştirilmiştir ve DNA'yı tek bir molekül ölçeğinde sıralayan bir cihaz şu anda piyasada mevcuttur (Feng vd., 2015; Wei, Ma, Jing, vd., 2020). Üçüncü nesil dizi analizi olarak tanımlanan Oxford Nanopore Teknolojileri (ONT) tarafından üretilen MinION®, PromethION® vb. cihazlar sayesinde DNA dizilemesi, kısa sürede, daha uzun okumalarla ve portatif özelliğiyle laboratuvar dışında da yapılabilmektedir. Nanopore teknolojisinin DNA dizileme alanındaki etkileyici teknik ilerlemelere rağmen, oldukça hassas, yüksek verimli protein dizileme tekniklerinin geliştirilmesi ciddi şekilde geride kalmıştır (Restrepo-Pérez vd., 2018). Nanopore teknolojisinin DNA dizileme çalışmalarına kıyasla protein dizilemesine uyarlanmasında bazı önemli zorluklarla karşılaşmaktadır. Örneğin, bir ssDNA homopolimeri doğrusal yapıda, kimyasal olarak kararlı ve yoğunudur; ayrıca homojen olarak yük dağılımına sahip olduğu için nanopore boyunca kolay geçebilir. Proteinler ise daha yüksek yoğunlukta ve heterojen yük dağılımı gösterir. Üstelik, çoğu protein doğal hallerinde katlanmış yapıdadır (Movileanu, 2009; Restrepo-Pérez vd., 2018).



Şekil 5. Nanopore teknolojinin uygulama alanları (BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur).
Figure 5. Application areas of nanopore technology (Created using BioRender.com).

Nanopore teknolojisinin protein dizileme sürecine uyarlanabilmesi 20 amino asit (AA) biriminin tanımlanması ve nanopore lümeninden proteinin translokasyonunun çözülmesini gerektirir (Howorka & Siwy, 2009). Bugüne kadar, biyolojik nanoporlarla proteinlerin tanımlanması için bu iki zorluğu aşmaya yönelik çeşitli stratejiler araştırılmıştır. Bu stratejiler arasında, AA'lerin nanopore lümen yüzeyi ile etkileşimin artırılması için AA-biyokonjugatlarının hazırlanması ve proteinlerin translokasyonu sırasında algılanmasına olanak sağlayan uygun nanopore mühendisliği yaklaşımları yer almaktadır (Huang vd., 2020, 2022; Ouldali vd., 2020; Wei vd., 2020; Wei vd., 2020; Zhang vd., 2023; Wei vd., 2024). Bu yöntemle proteinlerin algılanması, enzim bağlı immünosorbent deneyi (ELISA) ve kütle spektroskopisi gibi diğer yöntemlere göre bazı üstünlüklere sahiptir. Bu yöntem sayesinde; gerçek zamanlı protein karakterizasyonu yapılabilir ve miktarı belirlenebilir, protein açılma kinetiği, konformasyonel değişiklikler ve ligand bağlanma etkinliği hakkında bilgi sağlanabilir (X. Zhang vd., 2023). Biyolojik nanoporlarla hastalıkların tespit edilmesini sağlayan biyobelirteçlerin izlenmesine de olanak sağlamıştır. Liu ve arkadaşları, yakın zamanda nanopore teknolojisiyle yüksek hassasiyetle ve hızlı bir şekilde Alzheimer hastalığının teşhisinin konulmasında önemli olan β -amiloid peptitlerin agregasyonunun izlenmesinde (Lenhart vd., 2021) ve COVID-19 hastalığına neden olan SARS-CoV-2 corona virüsün spesifik immunoglobulin G (IgG) ve immunoglobulin M (IgM) antikorlarının insan serumunda diğer yöntemlere göre çok daha yüksek doğrulukla tespit edilmesinde kullanabileceğini göstermişlerdir (Zhang vd., 2021). MikroRNA'lar, gelişim ve hücre farklılaşması, hücre döngüsünün düzenlenmesi, apoptozda ve sinyal iletim

yolları gibi birçok önemli biyolojik süreçte rol oynayan 18-22 nükleotid uzunluğunda ve kodlamayan RNA sınıfına ait moleküllerdir (Wang vd., 2011). MikroRNA'ların anormal ekspresyonu tümörlerin tüm tiplerinde gözlemlenmiştir ve farklı kanser türleri kendilerine özgü mikroRNA profilleri sergilemektedir. Bu nedenle, tümöre özgü dolaşımdaki mikroRNA'ların tespiti; kanserin erken tanısı, evrelemesi ve izlenmesi açısından önemli bir biyobelirteç potansiyeli taşımaktadır (Wang vd., 2011). Genellikle, mikroRNA testi için kullanılan klinik örnekler, hastanın plazma gibi biyolojik sıvılardan elde edilen RNA ekstraksiyonlarıdır. Bu ekstraksiyonlar, miRNA'lar, mRNA'lar, tRNA vb. gibi çeşitli RNA türlerinin karmaşık bir koleksiyonudur (Tian vd., 2013). Wang vd. yaptığı çalışmada, akciğer kanseriyle ilişkili miR-155'i spesifik olarak tanımlayabilmek için α -HL biyolojik nanopore ile Watson-Crick baz eşleşmesine dayalı bir oligonükleotid probu (P155) tasarlamışlardır. α -HL nanopore ile hazırlanan sensör ile akciğer kanseri hastalarından alınan plazma örneklerinde, mikroRNA'ların etiketlenmesine veya çoğaltılmasına gerek kalmadan, tek moleküler düzeyde hedef miR-155'i diğer miRNA türlerinin arasından seçici olarak tespit edilebildiğini ve kanserle ilişkili mikroRNA'ların subpikomolar seviyelerini ölçebildiğini açıklamışlardır (Wang vd., 2011). Yapılan bu araştırmalar, biyolojik sıvılarda moleküler düzeyde biyolojik nanoporların yüksek seçicilikle biyobelirteçleri tanımlayarak hastalıkların teşhisinde etkili bir araç olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Salgın hastalıklar sırasında patojen örneklerinden RNA/DNA'nın hızlı dizilenmesi, hem bilimsel analiz hem de halk sağlığı müdahaleleri için kritik öneme sahiptir. Ancak örneklerin laboratuvarlara gönderilmesi veya uzak

salgın bölgelerinde geleneksel dizileme altyapısının kurulması önemli zorluklar yaratmaktadır (Hoenen vd., 2016). Nanopore teknoloji, saha koşullarında uygulanabilirliği sayesinde rutin biyolojik gözlemler, klinik tanı ve viral enfeksiyonların salgın araştırmaları için güçlü bir potansiyel sunmaktadır (Kilianski vd., 2016). Nitekim 2014 Batı Afrika salgını sırasında Liberya'daki saha laboratuvarlarında taşınabilir nanopore cihazları başarıyla kullanılmış ve viral genomlar kısa sürede dizilenmiştir (Hoenen vd., 2016). COVID-19 pandemisi boyunca nanopore platformları, SARS-CoV-2'nin evrimini izlemek ve varyantları gerçek zamanlı olarak tespit etmek amacıyla dünya genelinde yaygın şekilde uygulanmıştır (Chen vd., 2023).

MinION tabanlı hibrit protokoller; Zika ve diğer virüslerin hızlı genom analizlerini (Quick vd., 2017), klinik örneklerden *Mycobacterium tuberculosis*'in 24 saatten kısa sürede dizilenmesini (Lee & Pai, 2017), idrar örneklerinden bakteriyel patojenlerle antibiyotik direnç genlerinin tanımlanmasını (Schmidt vd., 2017) ve beyin omurilik sıvısından 16S amplikon dizileme ile bakteriyel menenjitin belirlenmesini mümkün kılmıştır (Mayer vd., 2022). Onkoloji alanında nanopore dizileme, beyin tümörlerinin epigenetik sınıflandırılması ve hastaların kanındaki sirküle tümör DNA'sı (ctDNA) üzerinden bireyselleştirilmiş hastalık takibi için başarıyla uygulanmıştır (Euskirchen vd., 2017). Ayrıca Güney Çin'de yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada, nadir talasemi varyantlarının tespitinde nanopore teknolojisinin geleneksel yöntemlere göre üstün performans gösterdiği bildirilmiştir (Lin vd., 2026).

Bu klinik uygulamalara ek olarak nanopore platformları, Uluslararası Uzay İstasyonu (ISS)'nda mikroçekim koşullarında biyolojik örneklerin tanımlanması ve DNA'nın dizilenmesi başarıyla test edilmiştir (Kim vd., 2026). Ekosistem araştırmalarında ise tropikal yağmur ormanlarında türlerin %99 doğrulukla yerinde tanımlanması (Pomerantz vd., 2022) ve tatlı su kaynaklarında kirlilik ile biyolojik çeşitliliğin izlenmesi nanopore platformlarıyla gerçekleştirilmiştir (Urban vd., 2021). Bu teknoloji, gıda, ilaç güvenliğinin ve AMR izlenmesinde de uygulanma potansiyeline sahiptir (Bilçay Akgün, 2019).

3.1. Nanopore teknolojinin çevresel uygulamaları

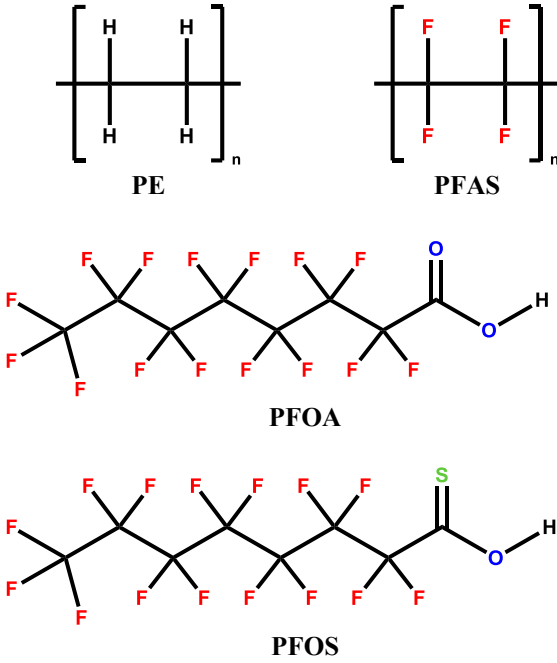
3.1.1. Polietilen (PE)

Son yıllarda, çevre kirliliği konusunda artan küresel endişeler ve plastik ürünlerin artan kullanımı, mikroplastikleri dünya çapında ciddi bir çevre kirleticisi haline getirmiştir. Bu doğrultuda, mikroplastik tespit yöntemlerinin geliştirilmesi ve mikroplastiklerin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri üzerine araştırmalar aktif olarak sürdürülmektedir. Polietilen (PE) (Şekil 6) yaygın olarak kâğıt bardaklar için bir kaplama olarak kullanılmakta olup, nano ve hatta nano-altı ölçekte mikroplastik partikülleri sulu çözeltilere salma potansiyeline sahiptir. Bu nedenle, çeşitli boyutlardaki plastik parçacıkların ölçümü için nanoporlar kullanılmıştır. Cho vd. (2024) α -HL nanopore ile plastik parçacıkların

elektrik akımlarının boyutlarına bağlı olduğunu keşfetti; gözenek açıklığıyla karşılaştırılabilir bir boyuta sahip olan parçacıklar nanoporlar tarafından hapsedildiğini ve parçacık titreşimi nedeniyle gözenğin kısa zaman aralıklarıyla (~10 ms) tekrar tekrar açılıp kapanmasına neden olduğunu açıklamıştır. Biraz daha büyük parçacıkların varlığı gözeneklere girerek bir tıkanma olayının meydana gelmesine neden olur. Ancak, gözenek boyutundan daha küçük moleküllerin varlığında, büyüklükleri parçacık boyutlarıyla orantılı olan dirençli darbe olayları ortaya çıkar. Ayrıca nanopore analizi, plastik partiküllerin bardaklardan süzülmesinin sıcaklığa bağlı olduğunu, kaynatılmış numunelerin oda sıcaklığındaki numunelere kıyasla 1.8 kat daha fazla partikül verdiğini ortaya koymuştur (Cho vd., 2024). Cho vd. (2024) kâğıt bardaklardan sızan plastik partiküller <1 nm ve >1 nm olarak sınıflandırmışlar ve yapay hücre membranları ile etkileşimleri ve hücrelerdeki enflamatuvar tepkileri değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, yaygın olarak kullanılan bir kâğıt bardakta, sıcak suda yaklaşık 1.13 mM ve oda sıcaklığındaki suda 0.62 mM konsantrasyonda <1.4 nm partiküllerin bulunduğunu göstermiştir. <1 nm plastik partiküllerin yapay hücre membranını yoğunlaştırabildiği, >1 nm partiküllerin ise yapay hücre membranını kalınlaştırabildiği gösterilmiştir. Ayrıca, kâğıt bardaklardan süzülen partiküllerin her iki boyut aralığı da hücrelerde enflamatuvar bir yanıtı tetiklemiş ve enflamatuvar yanıt konsantrasyon ve muamele süresiyle orantılı olarak artmıştır (Cho vd., 2024). Nanoporlar sadece analit türlerinin tanımlanmasını değil, aynı zamanda boyutlarının karakterize edilmesini de sağlamaktadır (Tian vd., 2025).

3.1.2. Per- ve polifloroalkil maddeler (PFAS)

Çeşitli florolu karbon zincirlerine ve fonksiyonel gruplara sahip per- ve polifloroalkil maddeler (PFAS) (Şekil 6); leke iticiler, yapışmaz kaplamalar, temizlik ürünleri ve sulu film oluşturucu köpükler gibi çeşitli kimya endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan maddelerdir (Menger vd., 2021; Blin vd., 2024). C-F arasında oluşan güçlü bağ PFAS'lere termodinamik kararlılık, mikrobiyolojik dirençliliği ile biyolojik bozunma reaksiyonlarına karşı dayanıklılık ve fotokimyasal reaksiyonlara karşı dirençli olmasını sağlar (Liou vd., 2010; Menger vd., 2021).



Şekil 6. Polietilen (PE) ve per- ve polifloroalkil maddeler (PFAS)'in molekül yapıları. PFOA: Perfluorooktanik asit, PFOS: Perfluorooktan sülfonik asit

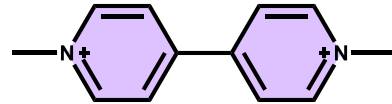
Figure 6. Molecular structures of polyethylene (PE) and per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). PFOA: Perfluorooctanoic acid, PFOS: Perfluorooctane sulfonic acid.

PFAS'lerin sağlam yapıları nedeniyle su kaynaklarında (içme suyu ve yüzey suyunda), toprakta, vahşi yaşamda, bitkilerde, insan gıda kaynaklarında, insan kanında, anne sütünde ve Kuzey Kutbu da dahil dünyanın her yerinde bulunduğu tespit edilmiştir (Liou vd., 2010; Menger vd., 2021; Wei vd., 2024). PFAS'lerin çevrede "sonsuz kadar kalıcı" olma özellikleri nedeniyle son zamanlarda önemli bir çevresel sorun haline gelmiştir (Menger vd., 2021). Bununla birlikte, bilimsel araştırmalar insanlarda, laboratuvar hayvanlarında ve vahşi yaşamda PFAS'a maruz kalmaktan kaynaklanan olumsuz sağlık etkilerinin ortaya çıkardığını göstermiştir (Bline vd., 2024). Bunlar arasında doğurganlığın azalması, tiroid hormonlarını etkileyen endokrin bozukluğu, karaciğer hastalığı, bağışıklık sistemini baskılama, aşı etkinliğini azaltma ve sağlıklı hücrelere bağlanarak böbrek ve testis gibi çeşitli kanserler sayılabilir (Bline vd., 2024; Wei vd., 2024). Ciddi sağlık sorunlarına ve çevresel sorunlara neden olan PFAS'lerin uygun yöntemlerle tespit edilmesi için en güvenilir yöntem, kütle spektrometresi ile birleştirilmiş kromatografiyi içermektedir. Hassasiyet ve özgüllüklerine rağmen, bu yöntemler pahalı ekipman, uzman operatörler, karmaşık numune hazırlama ve uzun analiz sürelerine ihtiyaç duymaları nedeniyle kesinlikle laboratuvar ortamlarıyla sınırlıdır. Bu olumsuzluklardan dolayı daha basit, daha erişilebilir, uygun maliyetli ve hızlı alternatif tespit yöntemleri geliştirilmesi gerekmektedir. Wei vd. (2024), PFAS tespiti için α -HL nanopore içine farklı siklodekstrin (CD) molekülleri (α -CD, β -CD, γ -CD ve 2-hidroksiyoopropil- γ -CD) yerleştirilerek nanopore ile PFAS arasındaki etkileşimleri araştırmışlardır. Biyolojik

nanopore içine γ -CD yerleştirilerek PFAS moleküllü ile konuk-konak etkileşimi ile etkileşime girerek elektrokimyasal olarak algılanabildiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada PFAS ailesinden en yaygın olan PFOA ve PFOS (Şekil 6)'lerin algılanması ilımlı bağlanma afinitesi nedeniyle γ -CD ile sağlamışlardır. PFCA ve PFSA ailelerinin çeşitli üyelerinin moleküler düzeyde daha fazla ayırt edilmesi ise HP- γ -CD'nin artan sterik direnci ile elde edilmiş ve hem seçiciliği hem de hassasiyeti artırmıştır. İçme suyunda, tanımlama limiti olarak PFOA için 0.4 ppm, PFOS için ise 2 ppm konsantrasyon seviyelerinde nanopore tekniği ile tespit etmişlerdir (Wei vd., 2024).

3.1.3. Paraquat

Paraquat, metil viyolojen olarak da bilinen bipiridinyum bileşikleridir (Şekil 7) ve 1960 yıllarından beri herbisit olarak tarımsal ürünlerin yabancı otlardan korunmasında kullanılır (Bismuth vd., 1990; Tsai, 2013). Ancak, paraquat insanlar ve hayvanlar için oldukça zehirlidir ve şu ana kadar etkili bir antidotu bulunamamıştır (Jiang vd., 2021). Paraquat; suda çok iyi çözünür, toprağa hızlı ve güçlü bir şekilde bağlanır (Bromilow, 2004). Canlılarda ölümcül etkiye ve ekosistemde önemli hasarlara neden olabileceği için, kullanımının azaltılmasıyla birlikte paraquatın tespit edilmesi için yeni, etkili, hızlı ve hassas teknikler geliştirmek büyük önem taşımaktadır (Jiang vd., 2021). Jiang vd., tek molekül düzeyinde konak-misafir etkileşimiyle oldukça toksik paraquatı yüksek hassasiyetle ve 0.37 ppb'lik bir nanomolar (nM) limite tespit yapabilen α -HL biyolojik nanopore sensör geliştirmişlerdir. Bu sensör, α -HL nanoporun lümeninin 111 ve 147 pozisyonuna pozitif yüklü arjinin (Arg) eklenmesiyle mutant α -HL nanoporun lümenine makrosiklik konak moleküllü pillar[5]aren türevi eklenmesiyle elde edilmiştir. Mutant α -HL nanopore, konak molekül olan pillar[5]aren türevi ile nanopore arasındaki etkileşimin artmasını sağlar ve nanopore sensörün kararlılığını artırır. Bu sensör, paraquatı 2 nM'a kadar düşük konsantrasyonlarda ve diğer geleneksel enstrümental yöntemlere göre yüksek hassasiyetle tespit edebilmiştir. Jiang vd. bu çalışmada geliştirdikleri α -HL nanopore sensörün, diğer küçük analitlerin incelenmesinde tek moleküllü bir araç olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Jiang vd., 2021).



Şekil 7. Bir pestisit olan Paraquat (metil viyolojen)'in molekül yapısı

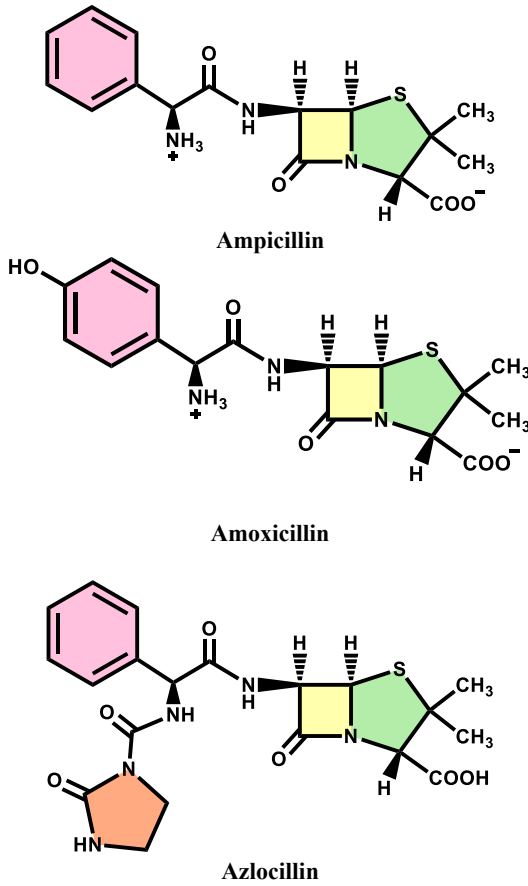
Figure 7. Molecular structure of Paraquat (methyl viologen), a pesticide.

3.2. Nanopore teknolojinin klinik uygulamaları

3.2.1. β -Laktam antibiyotikler

Antibiyotiklerin uzun süre ve yanlış kullanımları yüzünden son yıllarda antimikrobiyal direncin (AMR) artması dünya genelindeki otoriteler için büyük bir endişe kaynağı

olmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre, yalnızca Avrupa'da yılda yaklaşık 25 000 hasta AMR' nin neden olduğu enfeksiyonlardan ölmektedir (Bottari vd., 2018). Bu çerçevede, Avrupa Birliği ve dünya genelindeki birçok düzenleyici kurum, farklı gıda matrislerindeki birçok antibiyotik için maksimum kalıntı limitlerini (MRL) belirlemiştir (Bottari vd., 2018). Bununla birlikte, antibiyotiklerin tarımda ve su ürünleri yetiştiriciliğinde yaygın kullanımları, ev ve hastane kaynaklı atık suların çevre kirliliğine neden olmaktadır. Son zamanlarda AMR'lerdeki artışın halk sağlığı için tehdit oluşturması antibiyotiklerin gıda, su ve toprakta tespitinin yapılması büyük ölçüde önem kazanmıştır (Serrano & Silva, 2007). Asandei vd. tarafından yapılan çalışmada, α -HL nanopore içine Y-CD ile oluşturulan bir iyon kanalı sistemi kullanarak β -laktam ailesinden üç farklı antibiyotığın (amoxicillin, azlocillin ve ampicillin, (Şekil 8) tespit edilmesinde ve ayırt edilmesini sağladığını açıklamışlardır.



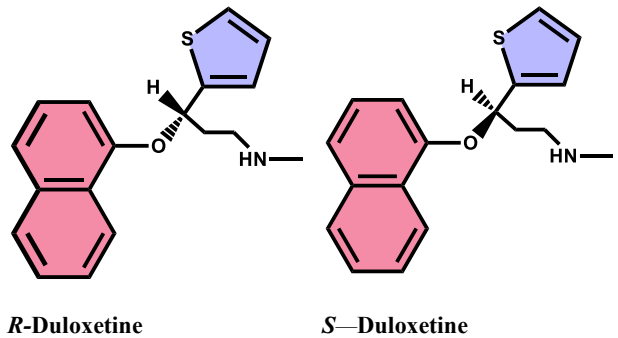
Şekil 8. β -Laktam ailesinden bazı antibiyotiklerin molekül yapıları
Figure 8. Molecular structures of some antibiotics from the β -lactam family

Bu antibiyotik moleküllerinin yalnızca antibiyotığın fiziksel boyutuna değil, aynı zamanda ilacın polaritesine de bağlı olarak tespit edilebildiğini göstermişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre β -laktam antibiyotiklerin alıkonma süreleri (T_{off}); ampicillin için $T_{off} = 0.07 \pm 0.005$ ms, amoxicillin için $T_{off} = 0.1 \pm 0.02$ ms ve azlocillin için $T_{off} = 0.008 \pm 0.0005$ ms olarak belirlemişlerdir. Y-CD- α -HL

kompleksi iyon seçici olmasına rağmen negatif yüklü azlocillinin alıkonma süresi diğer antibiyotiklerden daha küçüktür. Alıkonma süreleri arasındaki bu fark Y-CD'lerin neden olduğu sterik engelden veya antibiyotiklerin CD'deki bağlanma bölgesine erişmesi için enerjik olarak daha pahalı bir desolvasyon adımından kaynaklanıyor olabilir. Bu tekniğin, farmasötik uygulamalarda kullanılan diğer analitlerin tespiti için de kullanılabileceğini açıklamışlardır (Asandei vd., 2011).

3.2.2. Duloxetine (N-metil-3-(1-naptiloksi)-3-(2-tiyenil)propan-1-amin) (DLX)

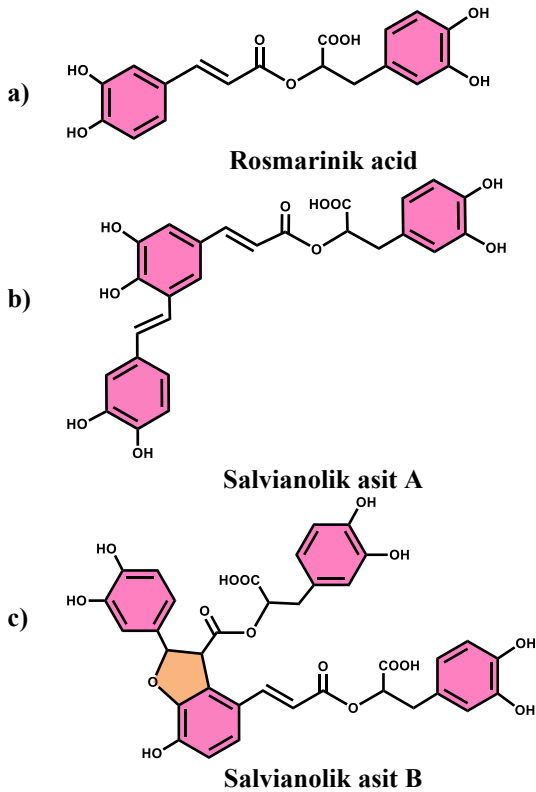
Duloxetine, serotonine ve norepinephrine gerialım inhibitörleri (SNRIs) ailesinden modern bir antidepresandır (Cui vd., 2024). Duloxetine piyasada, Cymbalta ticari adıyla (*S*)-duloxetine hidroklorürü olarak bulunur. Duloksetinden önceki tüm antidepresan ilaçlar rasematlar halinde formüle edilirken, duloxetin, (*R*)-enantiyomerinden en az 2.5 kat daha aktif olduğu gösterildiğinden, kiral olarak saf (*S*)-enantiyomer olarak satılan ilk SNRI ailesi ilacıydı (Şekil 9). Bir antidepresanın (ve diğer birçok ilaç sınıfının) spesifik bir enantiyomerinin daha spesifik reseptör bağlanmasına ve daha az yan etkiye yol açtığı kabul edilmesi, ilaç endüstrisi tarafından bu alanda yoğun araştırmalara yol açmıştır (Bhadbhade vd., 2023). Bu ilaçların enantiyomerleri aynı fizikokimyasal özelliklere sahip olsa da üç boyutlu şekillerindeki farklılıklar nedeniyle farmakodinamik, farmakokinetik ve toksikolojik özelliklerde önemli farklılıklar sergilerler. Bu nedenle, kiral tanıma için etkili yöntemlerin geliştirilmesi ilaç güvenliğinin sağlanmasında büyük önem taşımakta ve kemoterapi/biyolojik çalışmalarda önemli bir konu haline gelmiştir (Cui vd., 2024). Cui vd. (2024), *S*-DLX ve *R*-DLX enantiyomerlerinin ayırımı için α -HL nanopore ile modifiye edilmiş sulfobutil eter- β -siklodekstrin (SBE β CD) kullanmışlardır. Sonuçlar, *R*-DLX' in α -HL-(WT)7-SBE β CD tanıma reseptörüyle daha güçlü etkileşime girdiğini, daha derin akım blokları ve daha uzun bekleme süresi ürettiğini göstermiştir. Nanopordaki uzaysal sınırlama etkisi, DLX enantiyomerleri ile α -HL-(WT)7-SBE β CD tanıma reseptörü arasındaki etkileşimin artırılmasına olanak tanıyarak duyarlılığın artmasını ve enantiyomerik ilaçların tek molekül olarak üretilmesini mümkün kılmıştır (Cui vd., 2024).



Şekil 9. Duloxetine enantiyomerlerinin molekül yapısı
Figure 9. Molecular structure of duloxetine enantiomers.

3.2.3. Salvianolik asit

Fan vd., tıbbi bitkilerde yaygın olarak bulunan salvianolik asitlerin hızlı, doğru ve saha koşullarına uygun biçimde analiz edilmesi için yenilikçi bir biyolojik nanopore yaklaşımı sunmuşlardır (Fan vd., 2024). Salvianolik asitler (Şekil 10); *Salvia miltiorrhiza*, biberiye ve *Prunella vulgaris* gibi bitkilerde bol miktarda bulunan, kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde uzun süredir kullanılan suda çözünür fenolik bileşiklerdir. Serbest radikal temizleme ve Na/K-ATPase aktivitesini düzenleme gibi önemli farmakolojik etkileri nedeniyle, bu bileşiklerin güvenilir şekilde tanımlanması ve miktarının belirlenmesi hem kalite kontrol hem de yeni ilaç geliştirme süreçleri açısından kritik öneme sahiptir (Fan vd., 2024).



Şekil 10. Bazı salvianolik asitler a) Rosmarinik asit (RA) b) Salvianolik asit A (SaLA) c) Salvianolik asit B (SaLB)
Figure 10. Some Salvianolic Acids a) Rosmarinic acid (RA) b) Salvianolic acid A (SaLA) c) Salvianolic acid B (SaLB)

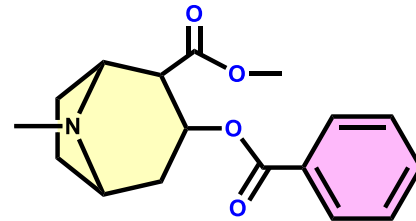
Fan vd.'nin yaptığı bu çalışmada, fenilboronik asit (PBA) adaptörü ile modifiye edilmiş MspA-90PBA biyolojik nanopore sensörü kullanılmıştır. PBA'nın salvianolik asitlerdeki cis-diol gruplarıyla tersinir etkileşimi, her bir molekül için ayırt edilebilir elektriksel sinyaller üretmiştir. Böylece bitkisel özütlerden ayırma veya saflaştırma gerektirmeden doğrudan analiz yapılabilmektedir. Geliştirilen sistem, kafeik asit, rosmarinik asit ve salvianolik asit B dahil olmak üzere sekiz farklı biyoaktif bileşiği yüksek doğrulukla tanımlanmıştır. Makine öğrenmesi tabanlı KNN sınıflandırıcısının entegrasyonu, molekül tanımlamada %99 doğruluk gibi dikkat çekici bir performans sağladığını açıklamışlardır. Yöntemin gerçek numuneler üzerinde test edilmesi sonucunda elde edilen

miktar verilerinin ürün kılavuzları ve literatürdeki HPLC sonuçlarıyla yüksek uyum gösterdiğini belirlemişlerdir (Fan vd., 2024). Bu yönleriyle Fan vd. (2024)'nin yaptığı bu çalışma, salvianolik asitlerin hızlı, güvenilir ve düşük hazırlık gerektiren tek molekül düzeyinde analizi için pratik, hassas ve klinik/saha kullanımına uygun bir nanopore platformu sunmaktadır.

3.3. Nanopore teknolojinin adli uygulamaları

3.3.1. Kokain

Erythroxyllum coca bitki yapraklarından elde edilen kokain (Şekil 11), sinir sistemi üzerinde etki eden, bağımlılığa neden olan bir çeşit uyuşturucudur. Kokain bağımlılığı kardiyovasküler sorunlara, iştah kaybına, anksiyeteye, paranoyaya, uykusuzluğa, organ hasarına, aşırı uyarılmaya ve şiddet içeren davranışlara neden olabilir. Bu nedenle, serum gibi sıvılarda kokainin çok düşük miktarlarda hızlı ve hassas bir şekilde tespit edilmesi, klinik teşhis ve uyuşturucuyla mücadelede kolluk kuvvetleri için büyük önem taşımaktadır. Kokainin tespiti için önerilen geleneksel yöntemler ticari enzime bağlı bağışıklık temelli ayırma testleri (ELISA), 4 kapiler elektroforez, kromatografi ve spektroskopi tabanlı tekniklerdir. Bu testlerin kullanımı genellikle uzun prosedürler, yüksek maliyet ve karmaşık kullanımları nedeniyle sınırlıdır (Rauf vd., 2017). Rauf vd, insan serumu ve tükürük örneklerinde kokainin hızlı ve son derece hassas tespiti için hedefe bağlı sarmal salınımı stratejisine dayanan etiketsiz bir α -HL nanopore biyosensör elde etmişlerdir. Kokain için bir aptamer kısa bir tamamlayıcı DNA ile önceden hibritleşmişlerdir. Aptamer ile kokaine özgü bağlanma sayesinde, kısa DNA sarmalı aptamerden yer değiştirmiş ve bu çıkış DNA'sının α -hemolizin nanopordan translokasyonu farklı sivri uç benzeri akım blokları oluşturmuştur. Çift logaritmik ölçekte çizildiğinde, hedef kokain konsantrasyonu ile çıkış DNA olay frekansı arasında 50 nM'den 100 μ M kokaine kadar geniş bir konsantrasyon aralığında doğrusal bir ilişki elde edilmiş ve tespit sınırı 50 nM'ye kadar inmiştir. Ayrıca, bu aptamer tabanlı sensör yöntemi, insan tükürüğü ve serum örnekleri gibi karmaşık biyolojik sıvılarda kokain tespiti için büyük bir seçicilikle başarıyla uygulanmıştır. Basit hazırlanan, düşük maliyet, hızlı, etiketsiz ve gerçek örnek tespiti, önerilen biyosensörün pratik uygulaması için motive edici faktörlerdir (Rauf vd., 2017).

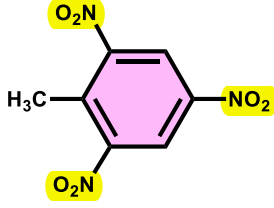


Şekil 11. Kokainin molekül yapısı
Figure 11. Molecular structure of cocaine

3.3.2. 2,4,6-Trinitrotoluen (TNT)

2,4,6-Trinitrotoluen (TNT) (Şekil 12), askeri ve endüstriyel uygulamalar için en yaygın kullanılan

patlayıcılardan biridir (Liu vd., 2010). Bununla birlikte önemli bir çevre kirleticidir. Guan vd. (2005), α -HL polypeptidin 113 pozisyonunda aromatik yan zincirinde (Phe, Tyr, Trp) tasarlanmış mutant α -HL'i (Met113Trp7) kullanarak diğer nitro aromatiklerin varlığında seçici olarak TNT tespit etmişlerdir (Guan vd., 2005). TNT'nin diğer aromatik nitro türlerine göre mutant α -HL ile alıkonma zamanı $T_{off} = 820 \pm 40$ ms olarak TNT'nin tespit edilmesinde kullanılan yöntemlerden biri olan bazı polimer temelli floresan sensörler farklı nitro aromatikler arasında mutant biyolojik nanoporun yaptığı bu ayrımı yapamaz (Guan vd., 2005).



Şekil 12. Trinitrotoluen (TNT) molekül yapısı
Figure 12. Molecular structure of Trinitrotoluene (TNT)

Nanopore Sensörlerinin Minyatürleştirilmesi: Nanopore sensörlerin minyatürleştirilmesi, tek molekül analizlerinin laboratuvar dışına taşınarak klinik tanı, çevresel izleme ve adli uygulamalarda kullanılabilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Biyolojik nanoporlarda minyatürleşme, özellikle taşınabilir dizileme cihazlarının geliştirilmesiyle belirginleşmiştir. ONT tarafından geliştirilen MinION gibi el tipi platformlar, düşük kütleli yapıları ve entegre elektronik bileşenleri sayesinde dizüstü bilgisayarlar veya akıllı telefonlarla gerçek zamanlı veri toplamayı mümkün kılmaktadır (Bayley, 2015). MinION, lipit çift tabakaları yerine yaklaşık 2000 adet sağlam polimer membran içeren ve her biri ayrı ayrı elektriksel olarak adreslenebilen mikro kuyucuklardan oluşan bir çip mimarisi kullanır. Poisson dağılımına göre optimum gözenek konsantrasyonunda membranların en fazla %37'sinin tek bir nanopore içermesi beklenir; bu nedenle MinION'da aynı anda yüzlerce nanopore aktif hâlde çalışarak tek gözenekli sistemlere kıyasla önemli bir veri üretim avantajı sağlanmaktadır (Bayley, 2015). MinION'da, Escherichia coli kaynaklı CsgG proteininden türetilmiş bir biyolojik nanopore kullanılır (Dorey & Howorka, 2024). Bu mühendislik ürünü CsgG gözenekleri, MinION'un yüksek stabilite, geniş lümen yapısı ve dizileme için optimize edilmiş iyonik akım profilleri sayesinde ticari başarıya ulaşmasında kritik rol oynamıştır (Dorey & Howorka, 2024).

Lipit tabakaların kırılabilirliğine yönelik çözümler arasında agaroz jel destekli protein çipleri ve cam nanopore membranlar üzerinde sabitlenen lipit tabakaları yer almakta olup, bu yapılar biyolojik nanoporların taşınabilirliğini ve dayanıklılığını artırmaktadır (Bayley vd., 2008; Gu & Shim, 2010; Liu vd., 2010). Ayrıca Damlacık Arayüz Tabakası (DIB) sistemleri, 100 nL seviyelerine kadar küçültülebilen hacimleriyle düşük reaktif tüketimi ve modüler sensör tasarımları sunmaktadır (Bayley vd., 2008; Gu & Shim, 2010).

Katı-hal nanoporlarda minyatürleşme ise daha çok malzeme mühendisliği ve yarı iletken teknolojileri

üzerinden ilerlemektedir. Atomik katman biriktirme (ALD), kontrollü dielektrik bozulma (CDB) ve iyon/edemeti ile inceltme gibi yöntemler, membran kalınlığının birkaç nm'ye kadar düşürülmesini sağlayarak çözünürlüğü artırmaktadır (Zhang vd., 2025). Minyatürleşmenin en uç noktasını ise atomik incelikte iki boyutlu (2D) malzemeler oluşturmaktadır. Grafen, MoS₂ ve MoS₂/SnS₂ gibi atomik incelikte 2D malzemeler, alt nanometre algılama hacimleriyle protein ve amino asit tanımlamasında yüksek performans sunmaktadır (Chen vd., 2023; Zhang vd., 2025). Katı-hal nanoporların mikroakışkan sistemler, CMOS devreleri ve optik algılama yöntemleriyle uyumluluğu, bu sensörlerin taşınabilir ve yüksek ölçekli platformlara entegrasyonunu kolaylaştırmaktadır (Houghtaling vd., 2018). Buna ek olarak, hibrit sistemler ve entegre platformlar da minyatürleşme sürecinin önemli bir parçasıdır. Katı-hal membranların dayanıklılığı ile biyolojik nanoporların seçiciliğini birleştiren hibrit yapılar hem kararlılığı artırmakta hem de gürültüyü azaltmaktadır (Howorka & Siwy, 2009; Zhang vd., 2025).

Genel olarak, biyolojik nanoporlar seçicilik ve organik molekül tanımlama açısından güçlü bir konumdayken; katı-hal nanoporlar dayanıklılık, üretim ölçeklenebilirliği ve cihaz entegrasyonu açısından tamamlayıcı bir avantaj sunmaktadır. Her iki sistemdeki minyatürleşme eğilimleri, nanopore teknolojilerinin taşınabilir, düşük gürültülü ve yüksek çözünürlüklü sensör platformlarına dönüşümünü hızlandırmaktadır.

Klinik ve Saha Uygulamalarındaki Zorluklar: Nanopore teknolojisi, klinik, çevresel ve adli uygulamalarda gerçek zamanlı, taşınabilir moleküler analiz için güçlü bir potansiyel göstermektedir. Bununla birlikte, klinik tanı ve saha tabanlı iş akışlarında daha geniş çapta benimsenmesi, standardizasyon, doğrulama ve kararlılıkla ilgili çeşitli kritik zorluklar nedeniyle hala sınırlıdır. Biyoinformatik analizlerde kullanılan farklı baz çağırma (basecalling) araçları (Guppy, Bonito, Dorado vb.), aynı ham veriden değişen doğruluk seviyelerinde sonuçlar üreterek veri tutarlılığını ve adli tıp uygulamalarında kanıt niteliğini zayıflatmaktadır (Gao vd., 2026). Ayrıca analiz yazılımlarının FAST5 ve SLOW5 gibi özel veri formatlarını işleme kapasitelerindeki farklılıklar, laboratuvarlar arası veri karşılaştırılabilirliğini sınırlamaktadır (Chen vd., 2023). Metagenomik ve çevresel DNA çalışmalarında ise referans veri tabanlarının eksik veya dengesiz olması, birden fazla genom bölgesine hizalanan okumalar (promiscuous reads) sorununu artırarak tür teşhisinde hatalara yol açmaktadır (Nousias vd., 2026). Bunun yanında örnek hazırlama, kütüphane oluşturma ve k-mer tabanlı akım haritalama gibi temel adımlarda laboratuvarlar arasında ortak bir protokolün bulunmaması, sonuçların tekrarlanabilirliğini olumsuz etkilemekte ve standardizasyon ihtiyacını daha da kritik hâle getirmektedir (Gao vd., 2026; Kim vd., 2026).

Nanopore teknolojisinin klinik tanı ve adli tıp gibi yüksek doğruluk gerektiren alanlarda rutin kullanıma girebilmesi için mevcut yöntemlerle uyumlu, kapsamlı bir validasyon sürecinden geçmesi gerekmektedir. Ancak güncel çalışmalar, teknolojinin hâlâ önemli doğruluk ve güvenilirlik sınırlılıkları taşıdığını göstermektedir. Tekil

okuma doğruluğundaki ilerlemelere rağmen, klinik karar verme süreçlerinde kritik öneme sahip nadir varyantların güvenilir biçimde tespiti için derin dizileme ve gelişmiş hata düzeltme algoritmalarına ihtiyaç duyulmaktadır (Chen vd., 2023; Lin vd., 2026). Bu durum özellikle küçük genomlu ve yüksek mutasyon hızına sahip viral patojenlerde hata oranlarını klinik açıdan riskli hâle getirmektedir (Chen vd., 2023).

Validasyon çalışmalarının büyük bölümü hâlen tek merkezli yürütülmekte olup, sonuçların farklı laboratuvarlar arasında karşılaştırılabilirliğini sınırlamaktadır (Gao vd., 2026). Teknolojinin klinik ve adli tıp uygulamalarında kabul görebilmesi için SWGDAM ve ISFG gibi uluslararası kuruluşların belirlediği standartlarla uyumlu, çok merkezli ve geniş kapsamlı doğrulama çalışmalarına ihtiyaç vardır (Gao vd., 2026; Lin vd., 2026). Ayrıca proteomik uygulamalarda 20 amino asidin tamamının nanopore içinde ardışık olarak yüksek doğrulukla tanımlanması hâlen teknik olarak mümkün değildir; bu durum protein dizilemenin klinik geçerliliğini sınırlayan önemli bir bariyer oluşturmaktadır (Cressiot vd., 2020). Nanopore tabanlı taşınabilir cihazlar saha uygulamaları için tasarlanmış olsa da kararlılık hem çevresel koşullara hem de numune kaynaklı değişkenlere karşı oldukça hassastır. Saha ortamlarında karşılaşılan sıcaklık dalgalanmaları, yüksek nem ve toz gibi çevresel faktörler, nanopore membranlarının fiziksel bütünlüğünü zayıflatarak sinyal gürültüsünü artırabilmekte ve ölçümlerin güvenilirliğini düşürebilmektedir (Gao vd., 2026). Bu durum özellikle uzun süreli ölçümlerde sensör performansının kararsız hâle gelmesine yol açmaktadır (Gao vd., 2026; Kim vd., 2026). Karmaşık matrislere sahip saha örnekleri de kararlılığı olumsuz etkileyen önemli bir diğer faktördür. Nehir suyu, toprak veya gıda gibi heterojen örneklerde yüksek viskozite, organik madde yoğunluğu ve değişken iyonik güç, gözenek iletkenliğini bozarak sinyal kalitesini düşürmekte ve gözenek tıkanması riskini artırmaktadır (Kim vd., 2026). Ayrıca, saha örneklerinin çoğu piktogram düzeyinde DNA içerdiğinden, nanopore sistemlerinin genellikle daha yüksek miktarda girdi gerektirmesi ek ön işleme ve amplifikasyon adımlarını zorunlu kılmakta; bu ek işlemler ise amplifikasyon yanlılığı ve örnek temsiliyetinin bozulması gibi nedenlerle sonuçların doğruluğunu sınırlayan ilave hata kaynakları oluşturmaktadır (Gao vd., 2026; Kim vd., 2026).

4. Sonuç

Biyolojik nanoporlarla geliştirilen portatif cihazların uygulama kolaylığı, düşük maliyeti, hızlı sonuç alınabilmesi ve uzun okumalar yapılabilmesi sayesinde genomik araştırmalarda oldukça ilerleme kaydedilmiştir. Bu derlemede sunulan örnekler, nanopore teknolojisinin yalnızca DNA ve RNA dizilemesiyle sınırlı olmadığını; peptitler, biyomoleküler kompleksler, ilaçlar, polimerler, makro moleküller ve organik moleküllerin tek molekül düzeyinde tanımlanmasında da güçlü bir platform olduğunu göstermektedir. Bilimin ve teknolojinin ilerlemesiyle birlikte hayatımızın her alanında organik temelli bileşiklerin kullanılması her geçen gün artmaktadır. İlaçların, pestisitlerin, plastiklerin, PFAS'lerin vb. diğer organik temelli bileşiklerin üretilmesi önemli olmakla

birlikte, kullanım sonucu bu bileşiklerin çevrede ve canlılar üzerinde etkilerinin izlenmesi de büyük önem arz etmektedir. Ayrıca TNT, kokain gibi bileşiklerin hızlı bir şekilde tespit edilmesi kolluk kuvvetlerince önemlidir.

Bu derleme, nanopore teknolojisinin genetik materyallerden çevresel, zirai ve adli öneme sahip organik bileşiklere kadar uzanan geniş bir yelpazede etiketsiz, hızlı ve hassas tespit potansiyelini ortaya koyarak, disiplinler arası uygulamalarda güçlü bir araç olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bu yetenek, su ve topraktaki çeşitli kirleticilerin izlenmesini de kapsayan çevre koruma ve kirlilik yönetimini desteklemenin yanı sıra, gıdalardaki pestisit, antibiyotik kalıntılarının tespiti gibi gıda güvenliğinin sağlanmasına da katkıda bulunmaktadır (Tian vd., 2025). Son yıllarda artan araştırmalar halk sağlığını ve ekosistemi tehdit eden antibiyotikler, pestisitler, nanoplastikler, PFAS gibi kirleticilerin biyolojik nanopore ile, diğer alternatif yöntemlere göre yüksek hassasiyetle, ucuz ve çok daha kolay bir şekilde tespit edilmesine olanak sağlayan bir teknoloji olarak ön plana çıktığını göstermektedir. Biyolojik nanoporların iyi tanınmış geometriye sahip olması modifikasyonunun yapılmasına olanak sağlamaktadır. Biyolojik nanoporların β -fıçı yapıları yeniden tasarlanmaya uygundur (Bayley & Jayasinghe, 2004). Modifiye edilmiş biyolojik nanoporlar, molekül için yapay bağlanma bölgelerini ortaya çıkararak daha güçlü moleküler algılamayı sağlarlar.

Bununla birlikte, teknolojinin bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. Biyolojik nanoporlarda kullanılan lipid membran kararlılığı, belirli pH ve sıcaklık aralıklarına duyarlılığı, yüksek tuz konsantrasyonlarına bağımlılık ve belirli moleküller için sinyal örtüşmeleri gibi faktörler, geniş ölçekli uygulamalarda dikkat edilmesi gereken noktalar. Ayrıca kompleks matrislerde (toprak, gıda, atık su) yüksek viskozite, organik madde yoğunluğu ve değişken iyonik güç, gözenek iletkenliğini bozarak sinyal kalitesini düşürmekte ve gözenek tıkanması riskini artırmaktadır. Bununla birlikte, kompleks matrislerde sinyal gürültüsünün artması, veri analizinde standartlaşma eksikliği ve blokaj olaylarının yorumlanmasında kullanılan algoritmaların çeşitliliği hâlen çözülmesi gereken konular arasındadır. Ayrıca, biyolojik nanoporların, klinik tanı ve adli tıp gibi yüksek doğruluk gerektiren alanlarda rutin kullanıma girebilmesi için mevcut yöntemlerle uyumlu, kapsamlı bir validasyon sürecinden geçmesi gerekmektedir.

Gelecek araştırma eğilimleri, biyolojik nanoporların modifikasyonu ile seçiciliğin artırılması, yapay bağlanma bölgeleri içeren tasarımların geliştirilmesi, hibrit biyolojik-katı hal nanopore sistemlerinin oluşturulması ve makine öğrenimi tabanlı sinyal analiz yöntemlerinin yaygınlaşması yönündedir. Ayrıca çevresel kirleticilerin, ilaç metabolitlerinin ve karmaşık organik bileşiklerin gerçek zamanlı ve sahada tespitine yönelik taşınabilir sistemlerin geliştirilmesi, teknolojinin uygulama alanlarını daha da genişletecektir.

Sonuç olarak, nanopore teknolojisi moleküler düzeyde gerçekleşen etkileşimlerin gerçek zamanlı ve etiketsiz

biçimde izlenebilmesini sağlayarak temel bilimlerden uygulamalı tanı sistemlerine kadar uzanan geniş bir yelpazede dönüştürücü bir potansiyel sunmaktadır. Bu yetenek biyolojik çeşitliliğin izlenmesi, çevre koruma, gıda güvenliği, adli bilimler, sağlık teknolojileri, farmakoloji, halk sağlığı gibi birçok alanda hızlı ve yenilikçi çözümlerin geliştirilmesine katkı sağlamaya devam edecektir.

5. Teşekkür

Öznur Ölmez Nalcioğlu, TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığınca yürütülmekte olan BİDEP-2219-Yurt Dışı Doktora Sonrası Araştırma Burs Programı kapsamında, “Nanopore teknolojisi ile küçük moleküllerin tek moleküler analizi için etkili konjuge stratejilerinin geliştirilmesi” başlıklı 1059B192100617 numaralı proje ile Güney Carolina Üniversitesi’nde (Güney Carolina, ABD) bir yıl süreyle doktora sonrası araştırma bursu desteği sağlandığı için TÜBİTAK-BİDEP’e teşekkür eder. Biyolojik nanopore alanında yürütülen projede destekleri için Prof. Qian Wang’a (Kimya ve Biyokimya Bölümü, Wang Grup) ve Dr. Chang Liu’ya (Kimya Mühendisliği ve Biyomedikal Mühendislik Programı, Liu Grup) teşekkürlerini sunar.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazar, bu makalede bildirilen çalışmayı etkileyebilecek herhangi bir rekabet eden mali çıkarı veya kişisel ilişkisi olmadığını beyan eder.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Makaleye ait araştırma, şekillerin çizimi, düzenlemenin tamamı yazar tarafından yapılmıştır. Yazar, bu çalışmanın hazırlanması sırasında dil ve okunabilirliği iyileştirmek için DeepL AI, Google Translate, Copilot gibi yapay zekâ destekli araçlardan faydalanılmış; bu araçları kullanımından sonra içerik yazar tarafından gözden geçirilip düzenlemiştir. Yayının tüm bilimsel ve etik sorumluluğu yazara aittir. Kaynakların düzenlenmesinde Zotero kullanılmış, atıf stili olarak American Psychological Association (APA) 7. sürümü kullanılmıştır.

6. Kaynaklar

Akyol, İ., Yıldız, M. A., & Tutar, E. (2017). Yeni nesil nükleotid dizileme metodlarının biyokimyasal temelleri. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 20(1), 1-15. <https://doi.org/0.18016/ksujns.76089>

Allhoff, F., Lin, P., & Moore, D. (2010). Nanoteknoloji nedir Ve Neden Önemlidir (Ö. Özgür, Çev.). TÜBİTAK Popüler Bilim Kitapları.

Asandei, A., Apetrei, A., & Luchian, T. (2011). Uni-molecular detection and quantification of selected β -lactam antibiotics with a hybrid α -hemolysin protein pore. *Journal of Molecular Recognition*, 24(2), 199-207. <https://doi.org/10.1002/jmr.1038>

Bayley, H. (2015). Nanopore sequencing: From imagination to reality. *Clinical Chemistry*, 61(1), 25-31. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.223016>

Bayley, H., Cronin, B., Heron, A., Holden, M. A., Hwang, W. L., Syeda, R., Thompson, J., & Wallace, M. (2008). Droplet interface bilayers. *Molecular BioSystems*, 4(12), 1191-1208. <https://doi.org/10.1039/B808893D>

Bayley, H., & Jayasinghe, L. (2004). Functional engineered channels and pores (Review). *Molecular Membrane Biology*, 21(4), 209-220. <https://doi.org/10.1080/09687680410001716853>

Bhadbhade, M. M., Gao, J., Rich, A. M., & Marjo, C. E. (2023). Structure of racemic duloxetine hydrochloride. *Acta Crystallographica Section E Crystallographic Communications*, 79(5), 488-493. <https://doi.org/10.1107/S2056989023003353>

Bilçağ, A. (2019). *Nanopore Sekanslama Teknolojisi Kullanılarak, Kişi Tanımlama Kiti Geliştirilmesi*. (Doktora Tezi, Ege Üniversitesi)

Bismuth, C., Garnier, R., Baud, F. J., Muszynski, J., & Keyes, C. (1990). Paraquat Poisoning: An Overview of the Current Status. *Drug Safety*, 5(4), 243-251. <https://doi.org/10.2165/00002018-199005040-00002>

Bline, A. P., DeWitt, J. C., Kwiatkowski, C. F., Pelch, K. E., Reade, A., & Varshavsky, J. R. (2024). Public health risks of PFAS-related immunotoxicity are real. *Current Environmental Health Reports*, 11(2), 118-127. <https://doi.org/10.1007/s40572-024-00441-y>

Bottari, F., Blust, R., & De Wael, K. (2018). Bio(inspired) strategies for the electro-sensing of β -lactam antibiotics. *Current Opinion in Electrochemistry*, 10, 136-142. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2018.05.015>

Bromilow, R. H. (2004). Paraquat and sustainable agriculture. *Pest Management Science*, 60(4), 340-349. <https://doi.org/10.1002/ps.823>

Chen, P., Sun, Z., Wang, J., Liu, X., Bai, Y., Chen, J., Liu, A., Qiao, F., Chen, Y., Yuan, C., Sha, J., Zhang, J., Xu, L.-Q., & Li, J. (2023). Portable nanopore-sequencing technology: Trends in development and applications. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1043967. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1043967>

Cho, G., Kim, K., Chen, W., Son, S., Jeon, T.-J., & Kim, S. M. (2024). Nanopore detection of sub-nanosized plastics in PE-coated paper cups and analysis of their inflammatory responses. *Chemical Engineering Journal*, 495, 153407. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.153407>

Cressiot, B., Bacri, L., & Pelta, J. (2020). The Promise of Nanopore Technology: Advances in the Discrimination of Protein Sequences and Chemical Modifications. *Small Methods*, 4(11), 2000090. <https://doi.org/10.1002/smt.202000090>

Cui, R., Wang, Z., Li, L., Liu, L., Li, Z., Liu, X., Chen, T., Rauf, A., Kang, X., & Guo, Y. (2024). Bionic nanopore recognition receptors for single-molecule enantioselectivity studies of chiral drugs. *Analytica Chimica Acta*, 1318, 342960. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2024.342960>

Dorey, A., & Howorka, S. (2024). Nanopore DNA sequencing technologies and their applications towards single-molecule proteomics. *Nature Chemistry*, 16(3), 314-334. <https://doi.org/10.1038/s41557-023-01322-x>

Dutta, D., & Das, B. M. (2021). Scope of green nanotechnology towards amalgamation of green chemistry for cleaner environment: A review on synthesis and applications of green nanoparticles. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 15, 100418. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100418>

Euskirchen, P., Bielle, F., Labreche, K., Kloosterman, W. P., Rosenberg, S., Daniau, M., Schmitt, C., Masliah-Planchon, J., Bourdeaut, F., Dehais, C., Marie, Y., Delattre, J.-Y., & Idhah, A. (2017). Same-day genomic and epigenomic diagnosis of brain tumors using real-time nanopore sequencing. *Acta Neuropathologica*, 134(5), 691-703. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1743-5>

Fan, P., Zhang, S., Wang, Y., Li, T., Zhang, H., Zhang, P., & Huang, S. (2024). Nanopore analysis of salvianolic acids in herbal medicines. *Nature Communications*, 15(1), 1970. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45543-1>

Feng, Y., Zhang, Y., Ying, C., Wang, D., & Du, C. (2015). Nanopore-based fourth-generation DNA sequencing technology. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 13(1), 4-16. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.01.009>

Fragasso, A., Schmid, S., & Dekker, C. (2020). Comparing current noise in biological and solid-state nanopores. *ACS Nano*, 14(2), 1338-1349. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b09353>

Gao, T., He, W., Feng, X., Long, B., & Zhang, D. (2026). Nanopore sequencing technology in forensic science: Status quo and tendency. *Annals of Human Biology*, 53(1), 2679464. <https://doi.org/10.1080/03014460.2026.2679464>

Gu, L.-Q., Braha, O., Conlan, S., Cheley, S., & Bayley, H. (1999). Stochastic sensing of organic analytes by a pore-forming protein containing a molecular adapter. *Nature*, 398(6729), 686-690. <https://doi.org/10.1038/19491>

Gu, L.-Q., & Shim, J. W. (2010). Single molecule sensing by nanopores and nanopore devices. *The Analyst*, 135(3), 441-451. <https://doi.org/10.1039/b907735a>

Guan, X., Gu, L., Cheley, S., Braha, O., & Bayley, H. (2005). Stochastic sensing of TNT with a genetically engineered pore. *ChemBioChem*, 6(10), 1875-1881. <https://doi.org/10.1002/cbic.200500064>

- Gyurcsányi, R. E. (2008). Chemically-modified nanopores for sensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(7), 627-639. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.06.002>
- Hoenen, T., Groseth, A., Rosenke, K., Fischer, R. J., Hoenen, A., Judson, S. D., Martellaro, C., Falzarano, D., Marzi, A., Squires, R. B., Wollenberg, K. R., De Wit, E., Prescott, J., Safronetz, D., Van Doremalen, N., Bushmaker, T., Feldmann, F., McNally, K., Bolay, F. K., ... & Feldmann, H. (2016). Nanopore Sequencing as a rapidly deployable ebola outbreak tool. *Emerging Infectious Diseases*, 22(2). <https://doi.org/10.3201/eid2202.151796>
- Houghtaling, J., List, J., & Mayer, M. (2018). Nanopore-based, rapid characterization of individual amyloid particles in solution: concepts, challenges, and prospects. *Small*, 14(46), 1802412. <https://doi.org/10.1002/sml.201802412>
- Howorka, S., & Siwy, Z. (2009). Nanopore analytics: Sensing of single molecules. *Chemical Society Reviews*, 38(8), 2360. <https://doi.org/10.1039/b813796j>
- Huang, G., Voorspoels, A., Versloot, R. C. A., Van Der Heide, N. J., Carlon, E., Willems, K., & Maglia, G. (2022). PlyAB nanopores detect single amino acid differences in folded haemoglobin from blood. *Angewandte Chemie International Edition*, 61(34), e202206227. <https://doi.org/10.1002/anie.202206227>
- Huang, G., Willems, K., Bartelds, M., Van Dorpe, P., Soskine, M., & Maglia, G. (2020). Electro-osmotic vortices promote the capture of folded proteins by PlyAB nanopores. *Nano Letters*, 20(5), 3819-3827. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c00877>
- Ikumapayi, O. M., Akinlabi, E. T., Adeoye, A. O. M., & Fatoba, S. O. (2021). Microfabrication and nanotechnology in manufacturing system – An overview. *Materials Today: Proceedings*, 44, 1154-1162. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.11.233>
- Jiang, X., Zang, M., Li, F., Hou, C., Luo, Q., Xu, J., & Liu, J. (2021). Highly sensitive detection of paraquat with pillar[5]arenes as an aptamer in an α -hemolysin nanopore. *Materials Chemistry Frontiers*, 5(18), 7032-7040. <https://doi.org/10.1039/D1QM00875G>
- Josip, I. (2018). *α -Hemolysin Nanopore Sensing of MicroRNA with Electrolyte Gradients*. (PhD thesis, University of Southampton)
- Kasianowicz, J. J., Brandin, E., Branton, D., & Deamer, D. W. (1996). Characterization of individual polynucleotide molecules using a membrane channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(24), 13770-13773. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.24.13770>
- Keyser, U. F. (2011). Controlling molecular transport through nanopores. *Journal of The Royal Society Interface*, 8(63), 1369-1378. <https://doi.org/10.1098/rsif.2011.0222>
- Kilianski, A., Roth, P. A., Liem, A. T., Hill, J. M., Willis, K. L., Rossmair, R. D., Marinich, A. V., Maughan, M. N., Karavis, M. A., Kuhn, J. H., Honko, A. N., & Rosenzweig, C. N. (2016). Use of unamplified RNA/cDNA-hybrid nanopore sequencing for rapid detection and characterization of RNA viruses. *Emerging Infectious Diseases*, 22(8), 1448-1451. <https://doi.org/10.3201/eid2208.160270>
- Kim, M., Pham, B., Foster, J. C., & Moore, M. D. (2026). Biological nanopore technology: Developments and implications for the agricultural sciences. *Trends in Food Science & Technology*, 173, 105758. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2026.105758>
- Lee, R. S., & Pai, M. (2017). Real-time sequencing of mycobacterium tuberculosis: Are we there yet? *Journal of Clinical Microbiology*, 55(5), 1249-1254. <https://doi.org/10.1128/JCM.00358-17>
- Lenhart, B., Wei, X., Watson, B., Wang, X., Zhang, Z., Li, C., Moss, M., & Liu, C. (2021). In vitro biosensing of β -Amyloid peptide aggregation dynamics using a biological nanopore. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 338, 129863. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129863>
- Lin, F., Yang, S.-X., Ge, Y.-Y., Yang, Y., Xie, L.-X., & Yang, L.-Y. (2026). Nanopore third-generation sequencing for the diagnosis of rare hemoglobinopathies in Southern China. *Journal of Human Genetics*. <https://doi.org/10.1038/s10038-026-01477-8>
- Liou, J. S.-C., Szostek, B., DeRito, C. M., & Madsen, E. L. (2010). Investigating the biodegradability of perfluorooctanoic acid. *Chemosphere*, 80(2), 176-183. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.03.009>
- Liu, A., Zhao, Q., & Guan, X. (2010). Stochastic nanopore sensors for the detection of terrorist agents: Current status and challenges. *Analytica Chimica Acta*, 675(2), 106-115. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.07.001>
- Maagi, M. T., Lupyana, S. D., & Jun, G. (2020). Nanotechnology in the petroleum industry: Focus on the use of nanosilica in oil-well cementing applications - A review. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 193, 107397. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2020.107397>
- Mayer, S. F., Cao, C., & Dal Peraro, M. (2022). Biological nanopores for single-molecule sensing. *iScience*, 25(4), 104145. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104145>
- Menger, R. F., Funk, E., Henry, C. S., & Borch, T. (2021). Sensors for detecting per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): A critical review of development challenges, current sensors, and commercialization obstacles. *Chemical Engineering Journal*, 417, 129133. <https://doi.org/10.1016/j.ccej.2021.129133>
- Mobasser, S., & Firoozi, A. A. (2016). Review of nanotechnology applications in science and engineering. *Journal of Civil Engineering and Urbanism*, 6(4), 84-93.
- Movileanu, L. (2009). Interrogating single proteins through nanopores: Challenges and opportunities. *Trends in Biotechnology*, 27(6), 333-341. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.02.008>
- Movileanu, L., Howorka, S., Braha, O., & Bayley, H. (2000). Detecting protein analytes that modulate transmembrane movement of a polymer chain within a single protein pore. *Nature Biotechnology*, 18(10), 1091-1095. <https://doi.org/10.1038/80295>
- Nousias, O., Duffy, F. G., Duffy, I. J., McCauley, M., Whilde, J., & Duffy, D. J. (2026). Long-read nanopore shotgun metagenomic DNA sequencing for river biodiversity, wildlife, pollution, and environmental health monitoring. *NAR Genomics and Bioinformatics*, 8(2), lqag040. <https://doi.org/10.1093/nargab/lqag040>
- Ouldali, H., Sarthak, K., Ensslen, T., Piguet, F., Manivet, P., Pelta, J., Behrends, J. C., Aksimentiev, A., & Oukhaled, A. (2020). Electrical recognition of the twenty proteinogenic amino acids using an aerolysin nanopore. *Nature Biotechnology*, 38(2), 176-181. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0345-2>
- Pomerantz, A., Sahlin, K., Vasiljevic, N., Seah, A., Lim, M., Humble, E., Kennedy, S., Krehenwinkel, H., Winter, S., Ogden, R., & Prost, S. (2022). Rapid in situ identification of biological specimens via DNA amplicon sequencing using miniaturized laboratory equipment. *Nature Protocols*, 17(6), 1415-1443. <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00682-x>
- Quick, J., Grubaugh, N. D., Pullan, S. T., Claro, I. M., Smith, A. D., Gangavarapu, K., Oliveira, G., Robles-Sikisaka, R., Rogers, T. F., Beutler, N. A., Burton, D. R., Lewis-Ximenez, L. L., De Jesus, J. G., Giovanetti, M., Hill, S. C., Black, A., Bedford, T., Carroll, M. W., Nunes, M., ... & Loman, N. J. (2017). Multiplex PCR method for MinION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. *Nature Protocols*, 12(6), 1261-1276. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.066>
- Rauf, S., Zhang, L., Ali, A., Liu, Y., & Li, J. (2017). Label-free nanopore biosensor for rapid and highly sensitive cocaine detection in complex biological fluids. *ACS Sensors*, 2(2), 227-234. <https://doi.org/10.1021/acssensors.6b00627>
- Restrepo-Pérez, L., Joo, C., & Dekker, C. (2018). Paving the way to single-molecule protein sequencing. *Nature Nanotechnology*, 13(9), 786-796. <https://doi.org/10.1038/s41565-018-0236-6>
- Sahani, S., & Sharma, Y. C. (2021). Advancements in applications of nanotechnology in global food industry. *Food Chemistry*, 342, 128318. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128318>
- Schmidt, K., Mwaigwisya, S., Crossman, L. C., Doumith, M., Munroe, D., Pires, C., Khan, A. M., Woodford, N., Saunders, N. J., Wain, J., O'Grady, J., & Livermore, D. M. (2017). Identification of bacterial pathogens and antimicrobial resistance directly from clinical urines by nanopore-based metagenomic sequencing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(1), 104-114. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw397>
- Serrano, J. M., & Silva, M. (2007). Use of SDS micelles for improving sensitivity, resolution, and speed in the analysis of β -lactam antibiotics in environmental waters by SPE and CE. *Electrophoresis*, 28(18), 3242-3249. <https://doi.org/10.1002/elps.200700016>
- Tian, K., He, Z., Wang, Y., Chen, S.-J., & Gu, L.-Q. (2013). Designing a polycationic probe for simultaneous enrichment and detection of MicroRNAs in a nanopore. *ACS Nano*, 7(5), 3962-3969. <https://doi.org/10.1021/nn305789z>
- Tian, W., Wang, X., Zhang, Y., Weng, T., Chaker, T., Chen, X., Kong, Q., & Wang, D. (2025). Pioneering role of nanopore single-

- molecule sensing in environmental and food surveillance. *Biosensors*, 15(1), 41. <https://doi.org/10.3390/bios15010041>
- Tsai, W.-T. (2013). A review on environmental exposure and health risks of herbicide paraquat. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 95(2), 197-206. <https://doi.org/10.1080/02772248.2012.761999>
- Urban, L., Holzer, A., Baronas, J. J., Hall, M. B., Braeuninger-Weimer, P., Scherm, M. J., Kunz, D. J., Perera, S. N., Martin-Herranz, D. E., Tipper, E. T., Salter, S. J., & Stammnitz, M. R. (2021). Freshwater monitoring by nanopore sequencing. *eLife*, 10, e61504. <https://doi.org/10.7554/eLife.61504>
- Wang, R., Zhang, Y., Ma, Q. D. Y., & Wu, L. (2024). Recent advances of small molecule detection in nanopore sensing. *Talanta*, 277, 126323. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126323>
- Wang, Y., Zheng, D., Tan, Q., Wang, M. X., & Gu, L.-Q. (2011). Nanopore-based detection of circulating microRNAs in lung cancer patients. *Nature Nanotechnology*, 6(10), 668-674. <https://doi.org/10.1038/nnano.2011.147>
- Wei, X., Choudhary, A., Wang, L. Y., Yang, L., Uline, M. J., Tagliazucchi, M., Wang, Q., Bedrov, D., & Liu, C. (2024). Single-molecule profiling of per- and polyfluoroalkyl substances by cyclodextrin mediated host-guest interactions within a biological nanopore. *Science Advances*, 10(45), eadp8134. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adp8134>
- Wei, X., Ma, D., Jing, L., Wang, L. Y., Wang, X., Zhang, Z., Lenhart, B. J., Yin, Y., Wang, Q., & Liu, C. (2020). Enabling nanopore technology for sensing individual amino acids by a derivatization strategy. *Journal of Materials Chemistry B*, 8(31), 6792-6797. <https://doi.org/10.1039/d0tb00895h>
- Wei, X., Ma, D., Ou, J., Song, G., Guo, J., Robertson, J. W. F., Wang, Y., Wang, Q., & Liu, C. (2024). Narrowing Signal Distribution by Adamantane Derivatization for Amino Acid Identification Using an α -Hemolysin Nanopore. *Nano Letters*, 24(5), 1494-1501. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.3c03593>
- Wei, X., Ma, D., Zhang, Z., Wang, L. Y., Gray, J. L., Zhang, L., Zhu, T., Wang, X., Lenhart, B. J., Yin, Y., Wang, Q., & Liu, C. (2020). N-terminal derivatization-assisted identification of individual amino acids using a biological nanopore sensor. *ACS Sensors*, 5(6), 1707-1716. <https://doi.org/10.1021/acssensors.0c00345>
- Yetisen, A. K., Qu, H., Manbachi, A., Butt, H., Dokmeci, M. R., Hinesstroza, J. P., Skorobogatiy, M., Khademhosseini, A., & Yun, S. H. (2016). Nanotechnology in textiles. *ACS Nano*, 10(3), 3042-3068. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b08176>
- Yılmaz, D. (2017). *Konik ve Çift Konik Geometrilili Nanogözeneklerde Parçacıkduyarlılığı Simülasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Medeniyet Üniversitesi)
- Ying, Y.-L., Cao, C., & Long, Y.-T. (2014). Single molecule analysis by biological nanopore sensors. *The Analyst*, 139(16), 3826-3835. <https://doi.org/10.1039/C4AN00706A>
- Zhang, X., Galenkamp, N. S., Van Der Heide, N. J., Moreno, J., Maglia, G., & Kjems, J. (2023). Specific detection of proteins by a nanobody-functionalized nanopore sensor. *ACS Nano*, 17(10), 9167-9177. <https://doi.org/10.1021/acsnano.2c12733>
- Zhang, Z., Sha, J., Qin, G., Chen, D., Si, W., Wang, Q., & Liu, L. (2025). Recent advances and emerging trends in nanopore-based single-molecule sensing of proteins. *Small Methods*, 9(12), e01603. <https://doi.org/10.1002/smt.202501603>
- Zhang, Z., Wang, X., Wei, X., Zheng, S. W., Lenhart, B. J., Xu, P., Li, J., Pan, J., Albrecht, H., & Liu, C. (2021). Multiplex quantitative detection of SARS-CoV-2 specific IgG and IgM antibodies based on DNA-assisted nanopore sensing. *Biosensors and Bioelectronics*, 181, 113134. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113134>