

تشخیص بیومارکر سرطان پروستات با استفاده از نانوزیست حسگر نوری مبتنی بر نانوذرات طلا

زهرا اکبری جونوش^۱ (M.Sc)، رضا منصوری^{۱*} (Ph.D)، فاطمه یزدیان^۲ (Ph.D)، میثم امیدی^۳ (Ph.D)

۱- گروه ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۲- دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات پروتئین، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

هدف: امروزه، تشخیص زودهنگام سرطان و درمان مؤثر سرطان در بهبود تشخیص و مدیریت سرطان حیاتی به شمار می‌آید و به همین دلیل شناسایی روش‌های حساس و خاص تشخیص سرطان در مراحل اولیه مورد نیاز است. یکی از این روش‌ها استفاده از حسگر زیستی و نانوذرات در مراحل اولیه تشخیص سرطان است. هدف این مطالعه، تشخیص بیومارکر کل PSA (Total prostate specific antigen) با استفاده از نانوزیست حسگر نوری بود. مواد و روش‌ها: در این جا شناسایی بیومارکر total PSA با استفاده از نانوذرات طلا پوشیده شده از آنتی‌بادی صورت پذیرفت. به همین منظور، آنتی‌بادی با استفاده از ۱۱ مرکاپتوئیدکانوئیک اسید MUA (11-Mercaptoundecanoic acid) و پیوندهای کووالانی بر روی نانوذرات طلا قرار داده شد و سرم بیماران با روش رزونانس پلاسمون سطحی (localized surface plasmon resonances, LSPR) بررسی شد و نتایج به دست آمده از روش LSPR و روش سنجش کمی لومینسانس (Chemiluminescent assay) CLIA با یکدیگر مقایسه شد. یافته‌ها: نتایج نشان داد که نانوزیست حسگر نوری از حساسیت و دقت خوبی جهت شناسایی بیومارکر کل PSA برخوردار است. همچنین مقدار حساسیت متوسط و کمینه حد تشخیص این روش برای شناسایی کل PSA به ترتیب برابر $1/1 \text{ ng/ml}$ و $0/9 \text{ ng/ml}$ محاسبه شد. نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که از نانوزیست حسگر نوری می‌توان به عنوان ابزاری در شناسایی بیومارکرهای سرطانی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: نانوزیست حسگر نوری، بیومارکر total PSA، آنتی‌بادی مونوکلونال علیه total PSA

مقدمه

افزایش سلول‌های اپی‌تلیال پروستات است که از این موارد ۷۰٪ در منطقه محیطی، ۱۵ تا ۲۰٪ در منطقه مرکزی و ۱۰ تا ۱۵٪ در منطقه انتقالی رخ می‌دهد [۲]. علت ایجاد سرطان پروستات شامل عوامل مختلفی مانند پیری، استعداد ژنتیکی، تغییرات هورمونی و شرایط زیست‌محیطی است [۳]. سرطان پروستات دومین علت منجر به مرگ در بین مردان و ششمین علت منجر به فوت مردان است [۵،۴]. در ایران سومین

سرطان به رشد غیرطبیعی سلول‌ها به دنبال تغییرات چندگانه در بیان ژن‌ها اطلاق می‌شود که منجر به برهم زدن توازن در تکثیر و مرگ سلول‌ها می‌شود [۱]. سرطان پروستات به علت رشد تهاجمی سلول‌های سرطانی در پروستات است. بیش از ۹۵٪ از سرطان پروستات ناشی از

دقیق تر PSA به کار برده می شود عبارتند از: بیوسنسور الکتروشیمیایی (پتانسیومتریک، آمپرومتریک و ایدیمتریک)، بیوسنسور نوری (رزونانس پلاسمون سطحی، فیبرنوری، فلورسانس و بیوسنسور پیزوالکتریک [۱۰-۱۳]). با وجود مزایایی که هر یک از روش های ذکر شده دارا هستند ولی ایجاد حسگر ساده، ارزان و در عین حال دقیق در تشخیص بیومارکرها لازم و ضروری است. در مقایسه با روش های متداول (الایزا و کمی لومینسانس) برای شناسایی بیومارکر PSA روش های مینی بر بیوسنسور دارای مزیت های حایز اهمیتی هستند که از آن جمله می توان به حساسیت قابل قبول، هزینه ساخت پایین و سادگی عملیاتی اشاره کرد [۱۴، ۱۵]. متأسفانه حساسیت و تشخیص اکثر حسگرهای زیستی رضایت بخش نیست، و روش های مینی بر آن هم چنان در مرحله توسعه است. لذا طراحی بیوسنسور رزونانس پلاسمون سطحی (LSPR (localized surface plasmon resonances) با حساسیت بالا در تشخیص بیومارکرها ی سرطانی هم چنان به عنوان چالش مطرح است. رزونانس پلاسمون سطحی (LSPR) یک پدیده نوری است و ابزاری برای مشاهده برهم کنش های بین یک آنالیت و بیومولکول تثبیت شده بر روی سطح است. این پدیده به پیوند بین آنالیت و بیومولکول حساس است. از این نظر رزونانس پلاسمون سطحی نوعی بیوسنسور محسوب می گردد. حسگرهای LSPR می توانند با تثبیت نانوذرات روی یک لایه شفاف مانند یک اسلاید شیشه ای، یا حتی به سادگی با قرار دادن نانوذرات خاص معلق در محلول در یک کوت ایجاد گردد که تشخیص بعد از اضافه کردن آنالیت صورت خواهد گرفت [۱۶].

نانوذرات کاربردهای فراوانی در پزشکی دارند از جمله لیبل های فلورسنت بیولوژیکی [۱۷]، تحویل دارو و ژن [۱۸]، تشخیص بیوگرافی از عوامل بیماری زا [۱۹]، تشخیص پروتئین [۲۰]، کاوش در مورد ساختار پروتئین [۲۱]، مهندسی بافت [۲۲]، تخریب تومور از طریق حرارت دادن (هیپرترمی) [۲۱]، جداسازی و خالص سازی مولکول های زیستی و سلولی و بهبود کنتراست در (MRI Magnetic resonance imaging)

سرطان شایع در بین مردان ایرانی است و در بین هر ۱۰۰ هزار نفر مرد ۹،۶ تا ۱۶ نفر مبتلا به سرطان پروستات هستند [۶].

تشخیص سرطان پروستات معمولاً از طریق: معاینه راست روده (digitalrectal examination)، اندازه گیری سطح PSA (Prostate-specific antigen) سرمی و بافت برداری است [۳].

آنتی ژن اختصاصی پروستات: بیومارکر PSA یک سرین پروتئاز ۳۴ کیلو دالتونی تولید شده توسط آسینار و مجرای ایتلیوم پروستات است. عمل کرد فیزیولوژیکی آن در جلوگیری از انعقاد مایع منی است. در سلامتی کامل، سد پروستاتی مانع از ورود PSA به گردش خون محیطی می شود، اختلال در این سد به دلیل التهاب، تومورهای خوش خیم یا بدخیم، اجازه ورود PSA به جریان خون را می دهد. به این ترتیب، غلظت PSA سرم با افزایش سن، تومور خوش خیم پروستات و سرطان پروستات تغییر می کند [۳]. در سرطان پروستات ۱۰ برابر بیش تر PSA به جریان خون وارد می شود. سطح PSA کل بالای ۲/۵ ng/ml در حال حاضر به عنوان نشانه بافت برداری در نظر گرفته می شود. در این گونه موارد، سطح PSA آزاد باید زیر ۱۹٪ باشد. نسبت free PSA به total PSA در سطح ۱۰-۴ ng/ml تشخیص را بهتر می کند [۷]. اندازه گیری PSA سرم به عنوان یک آزمون تشخیصی و درمانی در سرطان پروستات و در پیگیری بیماران مبتلا به بیماری و یا کسانی که درمان اساسی داشته اند است [۳].

در حال حاضر، بسیاری از آزمایش بیومارکرها در آزمایشگاه اختصاصی با استفاده از تجزیه گره های خودکار و بزرگ و با افزایش زمان و هزینه در حال انجام است. به منظور غلبه بر بیماری سرطان، روشی سریع و حساس به منظور تشخیص به موقع آن امری ضروری است [۸]. توسعه بیوسنسورها احتمالاً یکی از امیدبخش ترین راه ها در حل کردن برخی مشکلات مربوط به طراحی روش های آنالیزی بسیار حساس، سریع و اقتصادی در تشخیص پزشکی است [۹]. بیوسنسورهای که امروزه به منظور شناسایی بهتر و

تثبیت آنتی‌بادی بر سطح نانوذره طلا

به منظور تثبیت پروتئین بر روی سطح نانوذرات طلا از روش NHS (N-Hydroxysuccinimide) و EDC (3-Dimethylamionpropyl)-N-ethylcarbodiimide hydrochloride استفاده شده است.

اتصال الکتانتیول به نانوذرات طلا. ترکیبات الکتانتیول مانند مرکاپتودکانویسیک اسید-11 (MUA Mercaptoundecanoic acid) می‌تواند با جذب شیمیایی روی طلا یک سطح غیر باردار آب دوست ایجاد نماید. الکتانتیول‌ها به دلیل داشتن گروه تیول تمایل بالایی برای اتصال به ذرات طلا دارد. به منظور بررسی اتصال ترکیبات الکتانتیول به سطح نانوذرات طلا از سنجش FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) استفاده گردیده است. ۱۸ سی‌سی نانوذره طلا به همراه ۹ سی‌سی بافر فسفات سالین (PBS Phosphate buffered saline, ۱۰ mM, pH = ۷/۴) با ۰/۲ mg/ml از توئین ۲۰ به مدت ۱ ساعت در ظرف بسیار تمیز حاوی مگنت بر روی هم‌زن مخلوط شدند. توئین ۲۰ نقش سورفاکتانت را بازی می‌کند و مانع از اتصال نانوذره طلا به یک‌دیگر می‌شوند. بعد از گذشت زمان لازم ۱۸ سی‌سی از محلول MUA (۰/۵ mM) نیز اضافه شد و به مدت ۵ ساعت با دور ۵۰۰ rpm بر روی هم‌زن مخلوط شد؛ و از این طریق گروه‌های آلکتانتیول بر روی نانوذره طلا قرار گرفته شد. در نهایت به منظور خارج کردن گروه‌های آلکتانتیول آزاد مخلوط فوق به وسیله میکروتیوب (۱/۵ میلی‌لیتر) ۳ بار با سرعت $16000 \times g$ rcf به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد و رسوب نهایی در هر میکروتیوب با PBS (۱۰ mM, pH = ۷/۴) ۱ سی‌سی رسانده شد و با pH ۰/۲ (توئین ۲۰) به حجم نهایی ۱ سی‌سی رسانده شد و با ورتکس شدیداً مخلوط شد و باعث ایجاد محلول صورتی رنگ یک‌نواخت شد. در ادامه کار به هر میکروتیوب حاوی ۱ سی‌سی نانوذره طلا فعال شده با گروه‌های آلکتانتیول ۲۰۰ میکرو لیتر از محلول EDC/NHS (۲۰۰ mM و ۲۰۰ mM NHS) آماده شده اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس ۳ بار با PBS (۱۰ mM, pH = ۷/۴, ۰/۲ mg/ml)

[۲۳، ۲۴]. نانوذره طلا مزایای بیش‌تری نسبت به دیگر نانوذرات فلزی به علت سازگاری و غیر سمی بودن برای سلول دارند [۲۵]. در سال ۲۰۱۰ Dong Hwan Choi و همکاران از روش نانوذرات طلا کونژوگه بر اساس جریان جانبی LFA (lateral flow assay) برای تجزیه و تحلیل تروپونین I استفاده کردند که یک روش جدید و ساده و با استفاده از دو ترکیب نانوذرات طلا-آنتی‌بادی بود [۲۶]. در سال ۲۰۱۲ Yildiz Uludag و همکاران برای شناسایی بیومارکر سرطانی در نمونه سرم از پلاسمون رزونانس و سنسورهای میکروبالانس کریستال کوارتز با تقویت سیگنال نانوذرات استفاده کردند در این روش IgG موشی را روی سطح حسگر SRP ثابت کرده‌اند آنتی‌ژن (PSA) در روی آنتی‌بادی قرار می‌گیرد و به دنبال آن آنتی‌بادی دوم که با نانوذرات طلا نشان‌دار شده است آنتی‌ژن را ساندویچ می‌کند و این واکنش ثبت و منحنی آن رسم می‌شود [۲۷].

در مطالعه حاضر، شناسایی بیومارکر total PSA از طریق حسگر زیستی LSPR و با کمک نانوذرات طلا صورت پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

سنتر نانوذره طلا. سنتر نانوذره طلا با استفاده از روش ترکوویچ صورت گرفت. در این روش عمل احیا شدن نمک طلا با کمک سیترات در فاز مایع صورت گرفت. با این روش نانوذره کرومی شکل در اندازه ۱۲ تا ۲۲ نانومتر سنتز شد [۲۸]. در این‌جا به منظور تهیه نانوذرات طلا از روش احیای نمک HAuCl₄ توسط تری سدیم سیترات استفاده شده است. به صورت اختصار ۵۰ میلی‌لیتر HAuCl₄ ۰/۳ میلی‌مولار ۳ آبه در حال هم زده در بشر سر پوشیده جوشانده شد. ۵ میلی‌لیتر تری سدیم سیترات ۵ میلی‌مولار به محلول بالایی افزوده شد و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. در این مدت رنگ محلول به صورت قرمز آلبالویی درآمد. محلول در دمای اتاق و در شرایط هم زده سرد شد، این محلول برای استفاده‌های بعدی در یخچال نگهداری شد [۲۹].

آزمایش گزینش‌پذیری روش **LSPR (selectivity)** جهت انجام آزمایش selectivity, در ۱۲ میکروتیوب حاوی ۵۰۰ میکرولیتر نانوذره طلا کونژوگه شده با آنتی‌بادی ۵۰ میکرولیتر از سرم بیماران که فاقد تومور مارکر PSA و دارای تومور مارکرهای Albumin (Alb), antigen 125 (CA-125) Cancer Beta-Human Chorionic Gonadotropin (CA19-9) cancer antigen 19-9, (βHCG) و Carcinoembryonic antigen (CEA) بودند به درون میکروتیوب‌ها اضافه و انکوبه شد و پس از گذشت ۲۰ دقیقه توسط اسپکتروفتومتری در طول موج بین ۴۰۰ تا ۸۰۰ لامبدا قرائت گردید. تمام این آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شد.

آزمایش پایداری و زمان ماند **LSPR** یکی دیگر از عوامل مهم در عمل‌کرد روش بحث پایداری و زمان ماند روش LSPR است. به منظور بررسی پایداری و زمان ماند، پاسخ روش LSPR به صورت تغییرات پیک جذب LSPR به توتال PSA با غلظت ۹/۱۱ ng/ml در یک بازه‌ی ۲۰ روزه مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام آزمایش در میکروتیوب حاوی ۵۰۰ میکرولیتر نانوذره طلا کونژوگه شده با آنتی‌بادی ۵۰ میکرولیتر از سرم بیمار با مقدار مشخص توتال ۹/۱۱ ng/ml PSA به درون میکروتیوب اضافه و انکوبه شد و پس از گذشت ۲۰ دقیقه توسط اسپکتروفتومتری در طول موج بین ۴۰۰ تا ۸۰۰ لامبدا قرائت گردید. تمام این آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شد. این روند آزمایش در روز ۵، ۱۵، ۱۰، و ۲۰ نیز صورت گرفت.

نتایج

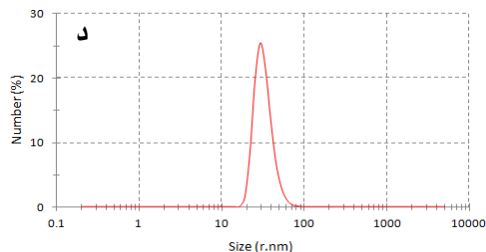
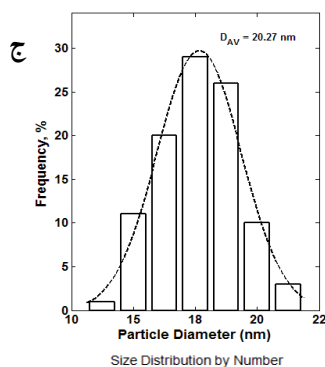
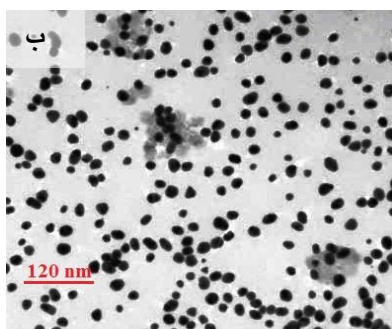
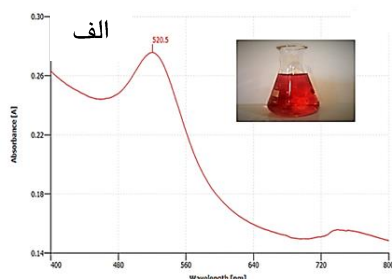
به منظور بررسی ویژگی‌های نوری نانوذرات ساخته‌شده طیف جذب نانوذرات در محدوده ۳۵۰ تا ۸۰۰ با استفاده دستگاه طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش ترسیم می‌گردد. برای بررسی توزیع اندازه و ساختار هندسی نانوذرات از آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری Transition electron microscopy (TEM) استفاده می‌شود. برای آماده‌سازی نمونه‌ها برای آنالیز TEM در ابتدا محلول $\times 10$ از نانوذرات

توئین (۲۰) با سرعت $1600 \times g$ rcf به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد و رسوب نهایی در ۱ سی‌سی از PBS (۱۰ mM, pH=7/4, 0/2 mg/ml, توئین ۲۰) معلق شد و در نهایت به مدت ۱۰ ثانیه با سونیکاتور پروبی سونیک شد و باعث ایجاد محلول بنفش رنگ یک‌نواخت شد. EDC یک عامل اتصال‌دهنده است که گروه‌های کربوکسیل را به گروه‌های آمین متصل می‌کند. در این جا گروه کربوکسیل مربوط به الکانوتیول‌ها را به گروه‌های آمین پروتئین یا آنزیم متصل می‌کند. EDC ابتدا خود به گروه کربوکسیل متصل می‌شود و یک استر ناپایدار را تشکیل می‌دهد NHS و Sulfo-NHS می‌توانند جایگزین EDC شده و ترکیبی نیمه پایدار را ایجاد کنند که در حضور آنزیم یا پروتئین که دارای گروه آمین هستند از گروه کربوکسیل رها شده و اجازه می‌دهد تا اتصال آمیدی (که یک پیوند کووالانسی است) رخ دهد. به منظور بررسی صحت انجام این فرایند از سنجش FTIR استفاده گردیده است [۳۱،۳۰].

اتصال ساخت نانوذره طلا کونژوگه شده با آنتی‌بادی. در نهایت به هر میکروتیوب حاوی ۱ سی‌سی نانوذره طلا و گروه‌های استری ۲۰۰ میکرولیتر (۴ μg/mL) از Anti-prostate specific antigen antibody اضافه شد و به مدت ۳ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. بعد از گذشت زمان محلول فوق ۳ بار سانتریفوژ شد تا آنتی‌بادی‌های اضافه خارج شود و در نهایت رسوب نهایی در بافر PBS (pH=7/4) معلق شد و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به منظور انجام آزمایش نگهداری شد [۳۱].

آزمایش سرم بیماران از طریق نانوذره طلا کونژوگه شده با آنتی‌بادی. جهت انجام آزمایش، در هر میکروتیوب حاوی ۵۰۰ میکرولیتر نانوذره طلا کونژوگه شده با آنتی‌بادی ۵۰ میکرولیتر از سرم بیماران به درون میکروتیوب‌ها اضافه و انکوبه شد و پس از گذشت ۲۰ دقیقه توسط اسپکتروفتومتری در طول موج بین ۴۰۰ تا ۸۰۰ لامبدا طول موج قرائت گردید؛ و در نهایت نتایج به دست آمده با نتایج به دست آمده از کمی لومیناس مقایسه شد. تمام این آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شد.

آنالیز DLS بر مقادیر حاصل از آنالیز TEM تعریف نمود. هر چه مقدار پارامتر توده‌ای شدن به عدد یک نزدیک‌تر باشد نشان‌دهنده این موضوع است که نانوذرات ساخته‌شده از پایداری بیش‌تری برخوردار است. مقدار این پارامتر برای این تحقیق ۱/۳۸ به دست می‌آید که نشان‌دهنده پایداری مناسب نانوذرات ساخته شده است.



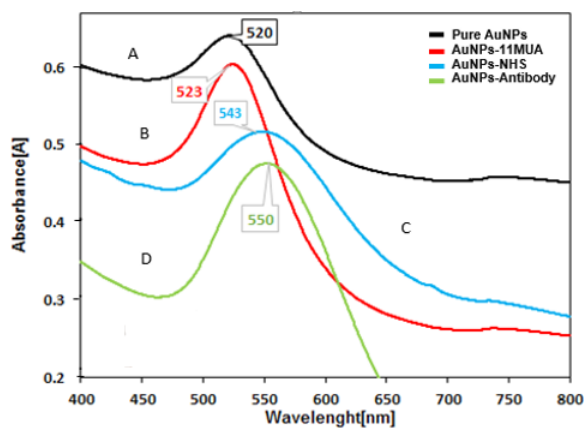
شکل ۱ (الف). نمودار طیف جذب نانو ذره طلا در محدوده ۴۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر به همراه محلول کلوتیدی نانو ذره طلا ساخته‌شده. (ب) تصویر TEM به همراه توزیع اندازه نانو ذرات طلا ساخته‌شده (ج) نمودار توزیع اندازه نانو ذرات طلا ساخته‌شده به وسیله آنالیز DLS (قطر متوسط نانو ذرات ۲۷/۹۸ نانومتر)

(TEM, Transition electron microscopy; DLS, Dynamic light scattering)

آماده‌شده سپس این محلول به مدت ۲۰ دقیقه سونیکه می‌شود. در ادامه ۹ میلی‌لیتر از این محلول بر روی گرید کربن-مس قرار داده می‌شود و اجازه می‌دهیم در شرایط خلأ کاملاً خشک گردد. به منظور اندازه‌گیری توزیع اندازه نانوذرات از طریق تصاویر TEM از نرم‌افزار ImageJ (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>) استفاده گردیده است. همچنین برای بررسی توزیع اندازه و بار سطحی نانوذرات از آنالیز پراکنندگی دینامیکی نور (DLS (Dynamic light scattering)) استفاده می‌گردد. برای آنالیز DLS از محلول x15 از نانوذرات استفاده گردیده است. مساحت سطحی کل نانوذرات در هر میلی‌لیتر از محلول از طریق اندازه‌گیری مساحت سطحی نانوذرات در درصد فراوانی آن‌ها که از طریق آنالیز DLS و یا TEM به دست آمده قابل محاسبه هست. برای بررسی اتصال گروه‌های عامل‌دار بر روی نانوذره طلا از آنالیز FTIR استفاده می‌شود.

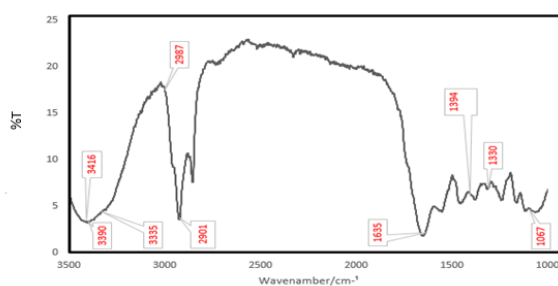
با توجه به شکل ۱ (الف) طیف جذب نانوذرات در محدوده ۳۵۰ تا ۸۰۰ نانومتر با استفاده دستگاه طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش ارائه گردیده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود برای نانوذرات ساخته‌شده پیک جذب LSPR در ۵۲۰ نانومتر مشاهده می‌گردد. در شکل ۱ (ب و ج) تصویر TEM به همراه توزیع اندازه نانوذرات طلا ساخته‌شده نمایش داده شده است و نشان‌دهنده این موضوع است که از لحاظ هندسی نانوذرات طلای ساخته‌شده به صورت کروی با اندازه متوسط ۲۰/۲۷ نانومتر است. از سوی دیگر نشان‌دهنده این است که نانوذرات به صورت مناسبی در محلول توزیع‌شده و پدیده توده‌ای شدن نانوذرات مشاهده نمی‌گردد.

به منظور بررسی توزیع اندازه نانوذرات طلا در محلول کلوتیدی آنالیز DLS صورت گرفته است که نتیجه آن در شکل ۱ (د) مشاهده می‌شود. آنالیز DLS قطر متوسط نانوذرات را ۲۷/۹۸ نانومتر نشان می‌دهد. مقادیر اندازه‌گیری شده توسط آنالیز DLS بیش‌تر مبین اطلاعاتی در زمینه پارامتر توده‌ای شدن است تا اندازه نانوذرات لذا می‌توان پارامتر توده‌ای شدن را از طریق تقسیم مقادیر به دست آمده از



شکل ۲. الف) نمودار طیف جذب نانو ذره طلا، منحنی (A) نانوذره طلا سنتز شده، منحنی (B) نانو ذره طلا اصلاح شده با MUA، منحنی (C) نانو ذره طلا اصلاح شده با EDC/NHS، منحنی (D) نانو ذره طلا کونژوگه شده با آنتی بادی. ب) نمایش تغییر رنگ در مراحل مختلف ساخت، شکل (A) نانو ذره طلا سنتز شده، شکل (B) نانو ذره طلا اصلاح شده با MUA، شکل (C) نانو ذره طلا اصلاح شده با EDC/NHS و کونژوگه شده با آنتی بادی

(MUA, 11-Mercaptoundecanoic acid; EDC, Dimethylamionpropyl)-N-ethylcarbodiimide hydrochloride; NHS, N-Hydroxysuccinimide



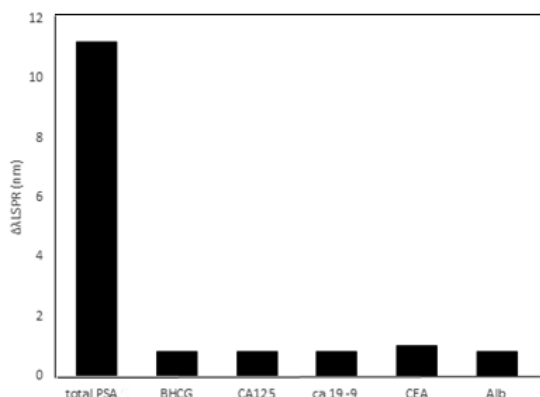
شکل ۳. طیف FTIR نانو ذره طلا کونژوگه شده با آنتی بادی

مقدار توتال PSA بیماران سنجش شده با روش LSPR استفاده از $\Delta \lambda_{max}$ (max λ) نانوذره طلا بعد از اتصال به آنالیت - λ_{max} (نانوذره طلا قبل اتصال) به دست آمد و با جای گذاری $\Delta \lambda_{max}$ در معادله شکل ۴ میزان توتال PSA بیماران محاسبه گردید شکل ۵. با توجه به P-value به دست آمده که بیش تر از ۰/۰۵ است (۰/۱) می توان گفت اختلاف معنی داری بین این دو روش وجود دارد و تأییدی بر روش

شکل ۲. الف) طیف جذب نانوذرات طلا متفاوت را در ۴ مرحله نشان داده است که بیانگر مشخصات و ویژگی های رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات طلا است. پیک جذب LSPR در نانوذره طلا اصلاح شده با MUA (منحنی B ۵۲۳) نانومتر است که در مقایسه با نانوذره طلا ساخته شده ۳ نانومتر تغییر نشان داده است (منحنی A). بیانگر این مطلب است که جذب مولکول های آلکانتیول بر روی سطح طلا از طریق میان کنش بین طلا-گوگرد و نیز شکل گیری تک لایه های دی الکتریک آلکانتیول در پیرامون نانوذره طلا منجر به تغییر طیف جذبی شده است. منحنی (C) نشان دهنده این موضوع است که تغییرات سطحی بر روی نانوذره فلزی رخ داده است که باعث تجمع و اتصال نانو ذرات فلزی به یکدیگر شده است. علت آن استریفیکاسیون گروه های کربوکسیل انتهایی در NHS است که باعث از بین رفتن یونیزاسیون کربوکسیل و خنثی شدن بار در سطح نانوذرات شده است و در نهایت تغییر ۲۰ نانومتری به وجود آمده دال بر این موضوع است و منحنی (D) اتصال آنتی بادی به نانوذرات طلا را تأیید می کند. شکل ۲. ب) نیز نشان دهنده تغییر رنگ در هر مرحله از اصلاح سازی طلا و تجمع و اتصال نانوذرات طلا به یکدیگر است.

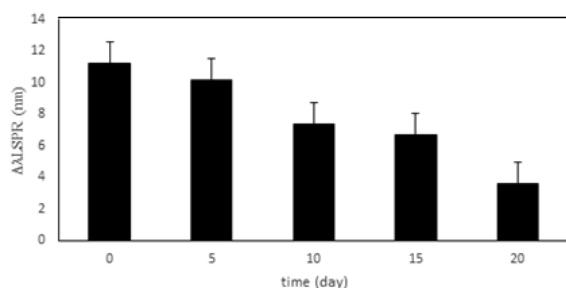
پیک های به دست آمده از آنالیز FTIR در شکل ۳ به خوبی بیان کننده گروه های عاملی در سطح نانوذره طلا و در نهایت اتصال آنتی بادی به سطح طلا بوده است. طیف ۳۳۹۰ وجود سیترات در نانوذره طلا سنتز شده اشاره دارد. دو طیف ۲۹۸۷ و ۲۹۰۱ cm^{-1} اختصاص به عامل C-H در گروه های آلکیل، آلکانتیول دارد و طیف ۱۴۰۷ cm^{-1} اختصاص به شکل گیری C-H در گروه آلکیل و طیف ۱۶۳۵ cm^{-1} اختصاص به شکل گیری C=H در گروه کربوکسیلیک دارد. طیف ۱۳۹۴ cm^{-1} که در ارتباط با اتصال O-H است نیز مشاهده شد. طیف ۱۰۶۷ cm^{-1} در ارتباط با عامل های C-OH در گروه های الکی انتهایی و طیف ۱۳۳۰ cm^{-1} نشان دهنده پیوندهای هیدروژنی در O-H است. طیف ۳۴۱۶ cm^{-1} به علت عامل های O-H است. در نهایت نتایج به دست آمده بیانگر اتصال بین آنتی بادی با نانوذره طلا است.

از تومور مارکرهای مختلف (CEA, CA19-9, CA125, BHCG, Alb) در شکل ۶ مورد بررسی قرار گرفته است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد این حسگر از اختصاصیت مناسبی نسبت به توتال PSA برخوردار است.



شکل ۶. بررسی اختصاصیت حسگر از طریق اندازه‌گیری پاسخ حسگر به صورت تغییرات پیک جذب LSPR به تومور مارکرهای مختلف با غلظت‌های معین

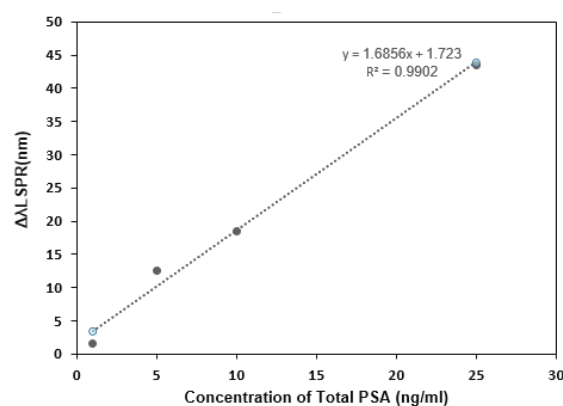
(total PSA, total prostate specific antigen; BHCG, Beta-Human Chorionic Gonadotropin; CA125, cancer antigen 125; CA19-9, cancer antigen 19-9; CEA, Carcinoembryonic antigen; Alb, albumin)



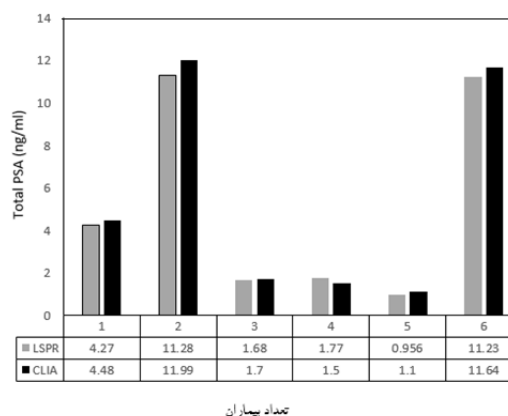
شکل ۷. پاسخ روش LSPR به صورت تغییرات پیک جذب LSPR به توتال PSA با غلظت ۱۱,۹۹ ng/ml در یک بازه ۲۰ روزه

یکی دیگر از عوامل مهم در عمل‌کرد روش LSPR بحث پایداری و زمان ماند روش LSPR است. به منظور بررسی پایداری و زمان ماند، پاسخ روش LSPR به صورت تغییرات پیک جذب LSPR به توتال PSA با غلظت ۹/۱۱ ng/ml در یک بازه ۲۰ روزه مورد بررسی قرار گرفت. همان‌گونه که در شکل ۷ مشاهده می‌شود پس از گذشت ۲۰ روز در دمای محیط (۴°C) پاسخ حسگر ۳۲٪ تغییر کرده است. در این‌جا زمان ماند برابر زمانی تعریف می‌گردد که حسگر قادر به

است. با توجه به P-value به دست آمده که بیش‌تر از ۰/۰۵ است (۰/۱) می‌توان گفت اختلاف معنی‌داری بین این دو روش وجود ندارد و تأییدی بر روش LSPR است. مقدار حساسیت متوسط روش LSPR به توتال PSA برابر ng/ml ۱/۱ محاسبه می‌گردد. هم‌چنین کم‌ترین مقدار انحراف معیار (σ) در اندازه‌گیری‌ها معادل ۰/۱۴ نانومتر است که از طریق این مقدار و شیب خط نمودار تغییرات (k) کمینه حد تشخیص حسگر از قانون "۳σ" قابل محاسبه است [۳۲]. مطابق قانون "۳σ" مقدار کمینه حد تشخیص برابر است با 3σ/k که در این صورت مقدار کمینه حد تشخیص برای این روش معادل ۰/۹ ng/ml است.



شکل ۴. منحنی کالیبراسیون غلظت‌های استاندارد توتال PSA



شکل ۵. مقایسه مقدار توتال PSA با دو روش LSPR و CLIA (LSPR, localized surface Plasmon resonances; CLIA, Chemiluminescent Assay)

یکی دیگر از پارامترهای مهم که می‌بایست مورد بررسی قرار گیرد بحث اختصاصیت حسگر است. به این منظور میزان تغییرات پیک جذب حسگر LSPR نسبت به غلظت‌های معین

انتخاب بیومارکر باید با اساس درمان و اساس بیولوژیکی ارتباط داشته باشد. یک بیومارکر ایده‌آل باید سریع، سازگار، به صرفه و قابل سنجش در نمونه‌های بالینی و بیولوژیکی باشد. به آسانی توسط پزشک قابل تفسیر باشد، بیان افزایشی و یا کاهش‌ی آن در ارتباط با وضعیت بیماری باشد و هم‌پوشانی با سطح بیومارکرهای موجود بین افراد سالم و بیماران درمان‌نشده نداشته باشد [۲].

تشخیص زودهنگام سرطان برای بقا و حیات و پیش‌آگهی موفق از بیماری ضروری است و به همین دلیل روش‌های حساس و خاص برای تشخیص سرطان در مراحل اولیه مورد نیاز است. شناخته‌شده‌ترین روش سنجش، روش الایزاست که بیش از ۳۰ سال است که از این آزمون به علت در دسترس بودن آنتی‌بادی برای مولکول، سهولت در اندازه‌گیری، توان این آزمون برای آزمون چندین نمونه هم‌زمان، انعطاف‌پذیری تست الایزا (رقابتی، ساندویچی یا مستقیم) و نیز تشخیص مفید آنتی‌ژن و آنتی‌بادی استفاده می‌شود. الایزا و روش کمی لومینسانس از ابزارهای ارجح تشخیص آنتی‌بادی‌های سرمی و آنتی‌ژن‌ها است. در چند سال اخیر تلاش‌های گسترده‌ای برای بهبود آزمون الایزا و کمی لومینسانس صورت گرفته است و در این زمینه استفاده از ایمونوسنسورها و زیست حسگرها بیش‌تر مدنظر است [۳۷].

استفاده از زیست حسگرها آسان است و دارای طیف متنوعی از آنالیت‌های بیولوژیکی برای اندازه‌گیری‌اند؛ قابل حمل هستند، علاوه بر این، برنامه‌های کاربردی دیگر زیست حسگرها حفظ سلامت مواد غذایی و نظارت بر محیط زیست است. حفظ و مراقبت از سلامت یکی از اهداف چالش‌برانگیز تکنولوژی و علم است و تشخیص اساسی‌ترین پیش‌شرط ضروری برای درمان و پیشگیری از بیماری است. علاوه بر کاربرد زیست حسگرها در تشخیص‌های پزشکی، استفاده از زیست حسگرها در محیط زیست، در زمینه امنیت و سلامت عمومی و در زمینه تجاری نیز مطرح است. البته سرعت رشد سنسورهای تجاری نسبت به سنسورهای تحقیقاتی کم‌تر است [۳۸، ۳۹].

اندازه‌گیری کمینه حد تشخیص خود باشد. با توجه به این تعریف و مقادیر به دست آمده از شکل ۷ و میزان پاسخ حسگر برای کمینه حد تشخیص و بالاترین مقدار انحراف معیار (σ) زمان ماند حسگر معادل ۱۰ روز است.

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان پروستات دومین سرطان رایج تشخیص داده شده در مردان و پنجمین سرطان شایع به طور کلی است. در ایالت متحده آمریکا سرطان پروستات دومین عامل مرگ‌ومیر در میان مردان است و در برخی از نژادها و قوم‌ها این میزان دارای شیوع بالاتری است. آفریقا-آمریکایی تبارها بالاترین فراوانی سرطان پروستات در سرتاسر جهان را به خود اختصاص داده‌اند و سفیدپوستان، اسپانیایی‌ها، آسیایی‌ها در رتبه‌های بعدی قرار دارند. زمانی که سرعت تقسیم سلولی بیش‌تر از مرگ سلولی شود و رشد کنترل نشده تومور رخ دهد سرطان پروستات ایجاد می‌گردد. ریسک فاکتورهای موثر در سرطان پروستات شامل رژیم غذایی، چاقی، عدم فعالیت بدنی، شغل، وازکتومی، سیگار کشیدن و زمینه ژنتیکی است [۳۳-۳۵].

آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) در سال ۱۹۷۰ کشف شد و شناخته‌ترین بیومارکر سرم برای سرطان پروستات است. بهترین نشانگر برای تشخیص، مرحله‌بندی، پایش سرطان پروستات در مراحل اولیه است. PSA یک سرین پروتئاز و به عنوان کالیکرین ۳ نیز شناخته می‌شود که به صورت وابسته به آندروژن توسط سلول‌های اپی‌تلیال مجرای پروستات تولید می‌شود. PSA به وسیله سلول‌های پروستات سالم در سطح پایینی تولید می‌گردد اما افزایش آن با تکثیر سلول‌های سرطانی و پیشرفت بیماری پروستاتی در ارتباط است. PSA هم به فرم آزاد و هم به فرم متصل به $\alpha 1$ آنتی‌تریپسین یا $\alpha 2$ ماکروگلوبولین در جریان خون وجود دارد. بافت برداری از پروستات، پروستاکتومی از طریق پیشاب‌راه، احتباس حاد ادراری می‌تواند سطح PSA را بالا ببرد [۳۶].

در سال ۲۰۱۱ Chen و همکارانش از ترکیب شاخص انکسار LSPR و الایزا برای ایجاد زیست حسگر ساده با حساسیت پذیری برای یک مولکول استفاده کردند. روش بر اساس طیف تصویری از تعداد زیادی از نانوذرات طلا مجزا بود. هر ذره با تعداد متغیری از آنریم horseradish HRP (peroxidase) اتصال پیدا می‌کرد که باعث کاتالیز واکنش رسوبی در سطح ذره شده است. واکنش آنزیماتیک باعث تقویت تغییر بیشینه پراکندگی LSPR شد و امکان ردیابی یک یا تعداد اندکی از مولکول HRP را در هر ذره فراهم کرد [۴۳].

در سال ۲۰۰۹ Chen و همکارانش نشان دادند که سیستم تشخیص بیومولکولی مبتنی بر LSPR روش ساده و مقرون به صرفه و با حساسیت فوق‌العاده است [۴۴].

در سال ۲۰۰۹ Zhou و همکاران از ایجاد بیوسنسور LSPR بر اساس نانوذرات نقره مثلثی برای تشخیص سطح سرمی تومور هسته‌ای پروتئین سرکوبگر (P53) بهره گرفتند. این گزارش نشان داد که نانو حسگرها LSPR دارای مزایای جذاب برای سروژی و یا تشخیص مولکول‌های تومور است [۴۵].

بدین ترتیب، می‌توان از نانو حسگرها بر اساس LSPR به عنوان ابزار قدرتمند برای به چالش کشیدن مسائل در برنامه‌های کاربردی بالینی و پزشکی استفاده کرد.

هدف کلی از انجام این پژوهش طراحی و ساخت حسگر زیستی به منظور تشخیص بیومارکر توتال PSA بر پایه روش نانو زیست حسگر نوری بوده است. در این تحقیق اتصال آنتی‌بادی بر روی سطح نانوذره طلا با استفاده از ۱۱ مرکاپتوئیدکانوئیک اسید به عنوان یک عامل اتصال‌دهنده صورت پذیرفت. از رزونانس پلاسمون سطحی موضعی (LSPR) به عنوان ابزاری برای مشاهده برهم‌کنش‌های بین آنتی‌ژن و آنتی‌بادی تثبیت‌شده بر روی سطح نانوذره طلا استفاده شد و با پایش پارامترهای انتقال طول موج پیک و تغییر جذب میزان آنتی‌ژن مورد نظر شناسایی شد. حسگر زیستی طراحی‌شده در این تحقیق، از گزینش‌پذیری و

در سال‌های اخیر شناسایی تومور مارکر PSA با نانو زیست حسگرهای مختلفی صورت پذیرفته است. زیست حسگر الکتروشیمیایی در سال ۱۹۹۹ توسط Meyerh، Sarkar در سال ۲۰۰۲ و Fernandez-sanchez در سال ۲۰۰۴ به کار گرفته شد. Wu و همکارانش در سال ۲۰۰۱، Wee و همکارانش در سال ۲۰۰۵ از زیست حسگر پزیوالکتریک و Besselink و همکارانش و Huang و همکارانش در سال ۲۰۰۵ از زیست حسگر نوری برای شناسایی PSA بهره گرفتند. در سال‌های اخیر از روش رزونانس پلاسمون سطحی برای شناسایی ایزوفرم‌های مختلف PSA استفاده شده است [۹].

روش LSPR یکی از قدرتمندترین فناوری بسیار حساس است. در سال‌های اخیر به طور ویژه از تکنیک زیست حسگرهایی بر اساس LSPR برای تشخیص سرطان استفاده شده است زیرا شناسایی بیومارکرهای سرطانی نقش مهمی در تشخیص اولیه بیماری، شناخت شرایط بدخیمی و پایش تأثیرات درمانی دارد [۴۰].

در سال ۲۰۰۸ Huang و همکارانش نانوزیست حسگر نوری تک مولکول را معرفی کرد که شامل آنتی‌بادی مونوکلونال متصل شده به سطح نانوذره بود. چنین نانو حسگر کوچک تشخیص تک مولکول در یک حجمی از نانو ذرات که کوچک‌تر از سطح مقطع مولکول آنتی‌بادی بودند را ایجاد کرد. این نویسندگان همچنین دریافته‌اند که حسگرهای زیستی به تخریب بر اثر نور مقاوم است و می‌تواند برای تصویربرداری و تجزیه و تحلیل کمی از تک مولکول پروتئین، فاکتور نکروز تومور- α استفاده شوند [۴۱].

در سال ۲۰۰۸ Mayer و همکارانش از روش LSPR استفاده کردند و سنسور را در معرض آنتی‌ژن‌های غیراختصاصی و اختصاصی با غلظت و وزن مولکولی یکسان قرار دادند و نتایج به دست آمده بیانگر میان‌کنش بیش‌تر آنتی‌ژن و آنتی‌بادی بر سطح سنسور نسبت به مطالعات dose-response بوده است [۴۲].

- [11] Zani A, Laschi S, Mascini M, Marrazza G. A new electrochemical multiplexed assay for PSA cancer marker detection. *Electroanalysis* 2011; 23: 91-99.
- [12] Jang HS, Park KN, Kang CD, Kim JP, Sim SJ, Lee KS. Optical fiber SPR biosensor with sandwich assay for the detection of prostate specific antigen. *Opt Commun* 2009; 282: 2827-2830.
- [13] Su L, Zou L, Fong CC, Wong WL, Wei F, Wong KY, et al. Detection of cancer biomarkers by piezoelectric biosensor using PZT ceramic resonator as the transducer. *Biosens Bioelectron* 2013; 46: 155-161.
- [14] Ngundi MM, Shriver-Lake LC, Moore MH, Lassman ME, Ligler FS, Taitt CR. Array biosensor for detection of ochratoxin A in cereals and beverages. *Anal Chem* 2005; 77: 148-154.
- [15] Omid M, Yadegari A, Zali H, Hashemi M, Hasanzadeh H. Cancer cell detection using electrochemical nanobiosensor based on graphene / gold nanoparticle. *Koomeh* 2016; 18: 211-219.
- [16] Willets KA, Duyn RPV. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Ann Rev Phys Chem* 2007; 58: 267-297.
- [17] Bruchez M Jr., Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos AP. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* 1998; 281: 2013-2016.
- [18] Pantarotto D, Partidos CD, Hoebeke J, Brown F, Kramer E, Briand JP, et al. Immunization with peptide-functionalized carbon nanotubes enhances virus-specific neutralizing antibody responses. *Chem Biol* 2003; 10: 961-966.
- [19] Edelstein RL, Tamanaha CR, Sheehan PE, Miller MM, Baselt DR, Whitman LJ, Colton RJ. The BARC biosensor applied to the detection of biological warfare agents. *Biosens Bioelectron* 2000; 14: 805-813.
- [20] Nam JM, Thaxton CS, Mirkin CA. Nanoparticle-based bio-bar codes for the ultrasensitive detection of proteins. *Science* 2003; 301: 1884-1886.
- [21] Salata OV. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnology* 2004; 2: 3.
- [22] Ma J, Huifen W, Kong LB, Peng KW. Biomimetic processing of nanocrystallite bioactive apatite coating on titanium. *Nanotechnology* 2003; 14: 619.
- [23] Molday RS, MacKenzie D. Immunospecific ferromagnetic iron-dextran reagents for the labeling and magnetic separation of cells. *J Immunol Methods* 1982; 52: 353-367.
- [24] Weissleder R, Elizondo G, Wittenberg J, Rabito CA, Bengel HH, Josephson L. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: characterization of a new class of contrast agents for MR imaging. *Radiology* 1990; 175: 489-493.
- [25] Tomar A, Garg G. Short review on application of gold nanoparticles. *Global J Pharmacol* 2013; 7: 34-38.
- [26] Choi DH, Lee SK, Oh YK, Bae BW, Lee SD, Kim S, et al. A dual gold nanoparticle conjugate-based lateral flow assay (LFA) method for the analysis of troponin I. *Biosens Bioelectron* 2010; 25: 1999-2002.
- [27] Uludag Y, Tothill IE. Cancer biomarker detection in serum samples using surface plasmon resonance and quartz crystal microbalance sensors with nanoparticle signal amplification. *Anal Chem* 2012; 84: 5898-5904.
- [28] Majzik A, Patakfalvi R, Hornok V, Dékány I. Growing and stability of gold nanoparticles and their functionalization by cysteine. *Gold Bulletin* 2009; 42: 113-123.
- [29] Fujiwara K, Kasaya H, Ogawa N. Gold nanoparticle monolayer formation on a chemically modified glass surface. *Anal Sci* 2009; 25: 241-248.
- [30] Li D, He Q, Cui Y, Duan L, Li J. Immobilization of glucose oxidase onto gold nanoparticles with enhanced thermostability. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 355: 488-493.
- [31] Weng G, Li J, Zhao J. Enhanced resonance light scattering of antibody covalently conjugated Gold nanoparticles due to antigen-antibody interaction induced aggregation. *Nanosci Nanotechnol Lett* 2013; 5: 872-878.

تکرارپذیری مناسبی برخوردار است. هم‌چنین مقدار حساسیت متوسط و کمینه حد تشخیص این حسگر بیومارکر توتال PSA به ترتیب برابر ۱/۱ و ۰/۹ ng/ml محاسبه شد. نتایج به دست آمده در این مقاله نشان‌دهنده این موضوع است که این حسگر از پتانسیل خوبی در تشخیص بیومارکر توتال PSA برخوردار است. این تحقیق مانند دیگر تحقیقات دارای کاستی‌های است، نتایج به‌دست آمده از زمان ماند و پایداری این حسگر طراحی شده نشان داد که بهترین زمان پایداری این حسگر ۱۰ روز بوده است و از چالش‌های که در این تحقیق با آن مواجه شدیم کم بودن میزان پایداری و ماند زمان حسگر طراحی شده است. مرحله بعدی این پژوهش که می‌تواند به طور عملی به تشخیص بالینی کمک کند استفاده از تکنیک LFA است. این روش یک تکنیک ساده و بدون نیاز به تجهیزات تخصصی برای تشخیص حضور و عدم حضور آنالیت مورد نظر است.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه‌های علوم پزشکی یزد، تهران و شهید بهشتی بابت حمایت از این طرح تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- [1] Riddon RW. *Cancer Biology*: Oxford University Press, USA; 2007.
- [2] Madu CO, Lu Y. Novel diagnostic biomarkers for prostate cancer. *J Cancer* 2010; 1: 150.
- [3] Linton KD, Catto JWF. Prostate cancer. *Surgery (Oxford)* 2013; 31: 516-522.
- [4] Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90.
- [5] Onsory K, Mousavi M, Haji mehdi Nouri Z, Vahabi Barzi N. Association between estrogen and progesterone receptors gene polymorphisms with prostate cancer. *Koomeh* 2016; 17: 455-463.
- [6] Mousavi SM. Toward prostate cancer early detection in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2009; 10: 413-418.
- [7] Doddamani D, Kayastha A. Prostate Cancer - What's New? *Med J Armed Forces India* 2008; 64: 51-56.
- [8] Omid M, Malakoutian M, Choolaei M, Oroojalian F, Haghirsadat F, Yazdian F. A label-free detection of biomolecules using micromechanical biosensors. *Chinese Phys Lett* 2013; 30: 068701.
- [9] Mascini M, Tombelli S. Biosensors for biomarkers in medical diagnostics. *Biomarkers* 2008; 13: 637-657.
- [10] Sarkar P, Pal PS, Ghosh D, Setford SJ, Tothill IE. Amperometric biosensors for detection of the prostate cancer marker (PSA). *Int J Pharm* 2002; 238: 1-9.

- [40] Hong Y, Huh YM, Yoon DS, Yang J. Nanobiosensors based on localized surface plasmon resonance for biomarker detection. 2012.
- [41] Huang T, Nallathamby PD, Xu X-HN. Photostable single-molecule nanoparticle optical biosensors for real-time sensing of single cytokine molecules and their binding reactions. *J Am Chem Soc* 2008; 130: 17095-17105.
- [42] Mayer KM, Lee S, Liao H, Rostro BC, Fuentes A, Scully PT, et al. A label-free immunoassay based upon localized surface plasmon resonance of gold nanorods. *ACS Nano* 2008; 2: 687-692.
- [43] Chen S, Svedendahl M, Van Duyne RP, Käll M. Plasmon-enhanced colorimetric ELISA with single molecule sensitivity. *Nano Lett* 2011; 11: 1826-1830.
- [44] Chen S, Svedendahl M, Käll M, Gunnarsson L, Dmitriev A. Ultrahigh sensitivity made simple: nanoplasmonic label-free biosensing with an extremely low limit-of-detection for bacterial and cancer diagnostics. *Nanotechnology* 2009; 20: 434015.
- [45] Zhou W, Ma Y, Yang H, Ding Y, Luo X. A label-free biosensor based on silver nanoparticles array for clinical detection of serum p53 in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Nanomed* 2011; 6: 381-386.
- [32] Omidi M, Alaie S, Rousta A. Analysis of the vibrational behavior of the composite cylinders reinforced with non-uniform distributed carbon nanotubes using micro-mechanical approach. *Meccanica* 2012; 47: 817-833.
- [33] Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Intern J Cancer* 2010; 127: 2893-2917.
- [34] Sissung TM, Price DK, Del Re M, Ley AM, Giovannetti E, Figg WD, Danesi R. Genetic variation: effect on prostate cancer. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1846: 446-456.
- [35] Hsing AW, Chokkalingam AP. Prostate cancer epidemiology. *Front Biosci* 2006; 11: 1388-1413.
- [36] Barry M. Clinical practice. Prostate-specific-antigen testing for early diagnosis of prostate cancer. *N Engl J Med* 2001; 344: 1373-1377.
- [37] Ricci F, Adornetto G, Palleschi G. A review of experimental aspects of electrochemical immunosensors. *Electrochim Acta* 2012; 84: 74-83.
- [38] Holford TR, Davis F, Higson SP. Recent trends in antibody based sensors. *Biosens Bioelectron* 2012; 34: 12-24.
- [39] Touhami A. Biosensors and nanobiosensors: design and applications. *Nanomedicine* 2014; 374-403.

Detection of prostate cancer biomarker using optical nanobiosensor based on gold nanoparticle

Zahra Akbari jonoush (M.Sc)¹, Reza Mansori (Ph.D)^{*1}, Fatemeh yazdiyan (Ph.D)², Meisam omidi (Ph.D)³
1- Dept. of Immunology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, yazd, Iran
2- Dept. of Life Science Engineering, Faculty of New Science and Engineering, University of Tehran, Iran
3- Research Center of protein, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

(Received: 6 Aug 2016; Accepted: 8 Jun 2017)

Introduction: Nowadays, early cancer detection and effective treatment is crucial for improved prognosis and cancer management and therefore, identification of sensitive and specific methods for early cancer detection is required. One of the methods for early cancer detection is biosensor and gold nanoparticles. The aim of this study was to examine total prostate specific antigen (PSA) biomarker using by nanobio-optical sensor.

Materials and Methods: Herein, antibody coated gold nanoparticles was employed in optical immunoassay for detecting of total PSA biomarker. To achieve the goal, antibody was covalently conjugated to gold Nano spheres using 11-Mercaptoundecanoic acid (MUA). Finally, sample serum was investigated by LSPR (localized surface Plasmon resonances) and finally, the results obtained by LSPR and CLIA (Chemiluminescence assay (were compared with each other.

Results: The results suggested that nano bio-optical sensor had good potential and good sensitivity in detecting of total PSA. Notably, the proposed nanobio-optical sensor delivered a good sensitivity with average sensitivity 1.1 ng/ml, and a low detection limit of 0.9 ng/ml.

Conclusion: These results indicate that the nanobio-optical sensor has a great potential in diagnosis of cancer biomarkers.

Keywords: Nanobio-optical Sensor, Prostate specific Antigen, Biomarker, total PSA Monoclonal Antibody

* Corresponding author. Tel: +98 21-22439848
m_omidi@sbu.ac.ir