



Design and Fabrication of an Aptasensor for Facile and Rapid Detection of Carcinoembryonic Antigen based on Gold-Nanoparticles

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Amani F.¹ PhD,
Tohidi Moghadam T.² PhD,
Bagheri Z.³ PhD,
Farahani N.² PhD,
Ranjbar B.^{*4} PhD

How to cite this article

Amani F, Tohidi Moghadam T, Bagheri Z, Farahani N, Ranjbar B. Design and Fabrication of an Aptasensor for Facile and Rapid Detection of Carcinoembryonic Antigen based on Gold-Nanoparticles. Modares Journal of Biotechnology. 2020;11(2):201-207.

¹Department of Biophysics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²Department of Nanobiotechnology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

³Department of Cell & Molecular Biology, Faculty of Life Sciences & Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

⁴Departments of Biophysics & Nanobiotechnology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Correspondence

Address: Tarbiat Modares University, Nasr Bridge, Jalal-Al-Ahmad Highway, Tehran, Iran
Phone: +98 (21) 82884754
Fax: +98 (21) 82884717
ranjbarb@modares.ac.ir

Article History

Received: June 3, 2019
Accepted: March 27, 2020
ePublished: June 10, 2020

ABSTRACT

Aptamers, DNA or RNA single-stranded sequences, have different applications in biological investigations, such as aptasensors, due to their many advantages including high specificity and affinity, cost-effectiveness and easy synthesis. In the present study, an aptasensor was designed based on the changes in the SPR spectra of spherical gold nanoparticle, in order to detect carcinoembryonic antigen (CEA) cancer indicator as a marker for breast cancer and its function was evaluated. In the presence of aptamer, gold nanoparticles were stable, SPR spectrum of these nanoparticles was unchanged after adding NaCl. However, in the presence of CEA as a cancer marker, aptamer binds to the target molecule and so, by adding NaCl consequently the SPR spectrum of spherical gold nanoparticles is changed. The results of this study showed that the designed aptasensor enables the detection of CEA over a range of 50ng ml⁻¹ and the limit of detection was about 22.75ng ml⁻¹. It seems this aptasensor can be used in the detection of carcinoembryonic antigen cancer marker.

Keywords CEA; Gold Nanoparticles; Aptasensor; Breast Cancer

CITATION LINKS

[1] Role of serum carcinoembryonic antigen (CEA) as a tumor marker in breast ... [2] The possible role of tumor antigen CA 15-3, CEA and ferritin in malignant and ... [3] Levels of CEA and Ca 19-9 in the sera and peritoneal cavity in patients with gastric and pancreatic ... [4] A comprehensive phylogenetic and structural ... [5] CEA monitoring in colorectal ... [6] Plasma von Willebrand factor level as a prognostic indicator of patients with metastatic colorectal ... [7] The diagnostic accuracy of carcinoembryonic antigen to detect colorectal cancer recurrence-A systematic ... [8] Determination of carcinoembryonic antigen in human sera by integrated bead-bed immunoassay in a microchip for cancer ... [9] Radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen ... [10] Simultaneous determination of α -fetoprotein and carcinoembryonic antigen in human serum by time-resolved ... [11] Highly sensitive immunoassay of lung cancer ... [12] In situ amplified electrochemical immunoassay ... [13] A sensitive amperometric immunosensor ... [14] Aptasensors design ... [15] In vitro selection of RNA ... [16] Systematic evolution of ligands by exponential ... [17] Aptamers: An emerging class of molecules ... [18] Applications of aptamers as ... [19] Aptamer-based ... [20] A review of molecular recognition technologies for detection of biological threat ... [21] Compositions comprising nucleic ... [22] An aptasensor for carcinoembryonic antigen based on upconversion fluorescence resonance energy ... [23] Electrochemical detection of carcinoembryonic antigen based on silver nanocluster/horseradish peroxidase nanocomposite as signal ... [24] Capillary electrophoresis-chemiluminescence detection for carcino-embryonic antigen based on aptamer/graphene oxide ... [25] Simple and rapid colorimetric biosensors based on DNA aptamer and noncrosslinking gold nanoparticle ... [26] Fast colorimetric sensing of adenosine and cocaine based on a general sensor design involving aptamers and ... [27] Gold nanostructures: Engineering their plasmonic ... [28] Gold nanoparticles as sensitive ... [29] Plasmon resonances of a gold ... [30] A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic ... [31] Extinction coefficient of gold nanoparticles with different sizes and different capping ... [32] Colorimetric detection of DNA sequences based on electrostatic interactions with unmodified gold ...

طراحی و ساخت آپتاسگر برای تشخیص سریع و آسان آنتی ژن کارسینومامبریونیک مبتنی بر نانوذرات کروی طلا

فضا امانی PhD

گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

طاهره توحیدی مقدم PhD

گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

زینب باقری PhD

گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

نسرين فراهانی PhD

گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

بیژن رنجبر PhD

گروه بیوفیزیک و نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

آپتامرها، توالی‌های تک‌ رشته DNA یا RNA، به دلیل مزایای زیادی همچون اختصاصیت و تمایل بالا، مقرون به صرفه بودن و روش تولید آسان کاربردهای مختلفی در مطالعات زیستی از جمله ساخت آپتاسگرها دارند. در مطالعه حاضر، آپتاسگری براساس تغییرات طیف SPR نانوذرات کروی طلا برای تشخیص آنتی ژن کارسینومامبریونیک (CEA) به عنوان نشانگر سرطان پستان طراحی و عملکرد آن ارزیابی شد. در حضور آپتامر، نانوذرات طلا پایدار بودند و با افزودن سدیم کلرید، طیف SPR این نانوذرات بدون تغییر ماند، اما در حضور نشانگر سرطانی CEA، آپتامر به مولکول هدف می چسبید و در نتیجه با افزودن سدیم کلرید، طیف SPR نانوذرات کروی طلا تغییر می کند. نتایج این مطالعه نشان داد که زیست حسگر طراحی شده توانایی تشخیص CEA را در محدوده ۵۰ نانوگرم بر میلی لیتر دارد و حد تشخیص آن حدود ۲۲/۷۵ نانوگرم بر میلی لیتر است. به نظر می رسد این زیست حسگر می تواند برای شناسایی نشانگر سرطانی آنتی ژن کارسینومامبریونیک مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه ها: CEA، نانوذرات طلا، آپتاسگر، سرطان پستان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۰۸

*نویسنده مسئول: ranjbarb@modares.ac.ir

مقدمه

سرطان پستان یکی از علل رایج مرگ و میر در زنان است. علی رغم تمام پیشرفت ها و تغییرات در روش های درمان، سرطان پستان هنوز بدون کنترل است و همچنان موجب افزایش میزان مرگ و میر می شود. درک زیست شناسی سرطان پستان، منشا و پیشرفت آن به درمان، تشخیص و حتی پیشگیری آن کمک خواهد کرد. همچنین شاخص های پیش آگاهی زیستی می توانند برای پیش بینی وضعیت بیماری استفاده شوند و علاوه بر این برای بررسی روند درمان و پیگیری های تکمیلی به کار آیند [1]. مطالعات اصلی بر روی جنبه های ایمنی شناختی سرطان پستان به منظور مشخص کردن نشانگر زیستی خاص انجام شده است. از میان

نشانگرهای مختلف که تاکنون شناسایی شده اند، آنتی ژن کارسینومامبریونیک (CEA) یکی از نشانگرهای زیستی بسیار مهم و با بیان بسیار بالا در بیماران مبتلا به سرطان پستان است [2].

آنتی ژن کارسینومامبریونیک (CEA)، گلیکوپروتئینی با وزن مولکولی ۲۰۰ کیلو دالتون است [3]. این آنتی ژن اولین بار توسط گولد و فریدمن شناسایی و معرفی شد و سطح آن در بیماری های خوش خیم عادی است [4]. این گلیکوپروتئین یکی از نشانگرهای سرطانی مهم سطح سلولی است که در بسیاری از کارسینوماها یافت می شود. مقدار CEA در سرطان کولون، پستان، ریه و کارسینومای سلول کبدی افزایش می یابد، از این رو سطح آن پیش بینی بیماری، پیشرفت آن و اثر درمان را نشان می دهد [5-7]. برای شناسایی CEA روش های مختلفی مانند ایمنونواسی، رادیوایمنونواسی، فلوروایمنونواسی، اسپکتروسکوپی رامان و الکتروشیمی استفاده شده است [8-13]. روش های ذکر شده به دلیل استفاده از ابزارهای گران قیمت و آنتی بادی مقرون به صرفه نیستند. همچنین به دلیل معایبی همچون پروسه عملکردی پیچیده، طولانی بودن زمان آنالیز و خطرات تابش اشعه نیاز به توسعه روش های سنجش آسان، سریع و ارزان برای شناسایی CEA همچنان وجود دارد.

امروزه حسگرهای زیستی بر پایه آپتامر توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده اند. در این نوع حسگرها به جای آنتی بادی از آپتامر به عنوان جزء تشخیص دهنده زیستی استفاده می شود [14]. آپتامرها، توالی های DNA یا RNA تک رشته ای کوتاه هستند که صورت بندی سه بعدی خاصی را برای اتصال به آنالیت های هدف با اختصاصیت و تمایل بالا با روش مشابه آنتی بادی ها اتخاذ می کنند [15, 16]. نام آپتامر از یک واژه لاتین (Aptatus) به معنای جفت کردن مشتق شده است [17]. آپتامرها نسبت به آنتی بادی های متداول مزایای قابل توجهی را به عنوان جزء تشخیص دهنده در حسگرهای زیستی دارند که از جمله این مزایا می توان به اندازه کوچک، پایداری بالا، مقرون به صرفه بودن، تکثیر آسان و مهمتر از همه انعطاف پذیری و طراحی آسان ساختار را نام برد که این ویژگی ها منجر به ساخت حسگرهای جدید با حساسیت و قدرت انتخابی بالا شده اند [18]. با توجه به این مزایا، امروزه آپتامرها کاربردهای وسیعی در زمینه تشخیص و درمان بیماری ها دارند [19]. آپتامرها در محیط آزمایشگاهی با استفاده از روش SELEX شناسایی و تکثیر می شوند. این روش در سال ۱۹۹۰ ابداع شد [15]. برخلاف تهیه آنتی بادی ها که بر القای سیستم ایمنی بدن حیوانات متکی است، فرایند SELEX امکان ساخت آپتامرها برای اهداف سمی و غیرایمنی را فراهم می کند که در سیستم ایمنی بدن امکان پذیر نیست [20]. آپتامرهای مختلفی برای CEA گزارش شده اند که این آپتامرها از لحاظ توالی، طول و درصد GC متفاوت هستند [21]. از میان این آپتامرها، پرمکاربردترین آپتامر CEA که تمایل بالایی نسبت به CEA دارد (Kd برابر ۵ نانومولار)، دارای ۱۸ جفت باز است، درصد GC پایینی دارد و در حسگرهای بر

پایه FRET، الکتروشیمی و لومینسانس شیمی مورد استفاده قرار می‌گیرد [22-24].

در سال‌های اخیر نانوذرات طلا به دلیل خواص نوری و الکترونیکی منحصربه‌فرد کاربردهای مختلفی پیدا کرده‌اند که یکی از مهمترین آنها کاربرد در ساخت زیست‌حسگرها است. در آنتا‌حسگرهای نوری رنگی از نانوذرات کروی طلا یا چندین پلیمر که باعث تغییر رنگ می‌شوند، به عنوان معرف‌های جدید برای روش تشخیص نوری استفاده می‌شود. اساس عملکرد این نوع حسگرها بر پایه تجمع و یا عدم تجمع نانوذرات طلا است [25, 26]. توزیع یکنواخت الکترون‌ها روی سطح نانوذرات کروی طلا سبب ایجاد پلاسمون سطحی در حال نوسان (SPR) ویژه نانوذرات در طول موج‌های ناحیه مرئی می‌شود. SPR حاصل برخورد نور با نانوذره و به نوسان درآمدن الکترون‌های لایه هدایتی نانوذرات طلا است که این امر موجب حساسیت بالای نانوذرات کروی شکل طلا به محیط اطراف آنها می‌شود [27]. نانوذرات با داشتن این خاصیت قادر هستند تغییرات محیط را شناسایی کنند [28]. همچنین، SPR آنتا‌حسگری براساس تغییرات SPR برای شناسایی CEA طراحی شد. طراحی به گونه‌ای است که در عدم حضور CEA، آنتامر به نانوذرات کروی طلا متصل می‌شود و SPR نانوذرات کروی طلا در حضور نمک تغییر نمی‌کند. در حضور CEA، آنتامر به آن متصل می‌شود و این سیستم در حضور نمک ناپایدار است و SPR نانوذرات کروی طلا تغییرات محسوسی می‌کند. از تکنیک طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش برای بررسی تغییرات استفاده شد.

مواد و روش‌ها

مواد

آنتامر 3' TTAAGCTTATTCGACCATA 5' (AnaSpec؛ ایالات متحده)، هپس، سدیم کلرید، کلرید طلا (سه‌آبه) و سدیم سیترات دوآبه (سیگما-آلدیج؛ ایالات متحده) و آنتی‌ژن کارسینوما مریونیک انسانی (Abcam؛ انگلستان) خریداری شد.

سنتز نانوذره کروی طلا

سنتز نانوذرات کروی طلا مطابق با روش احیایی سیترات سدیم که اولین بار توسط میرکین و همکاران در سال ۱۹۹۶ معرفی شده است، انجام شد [30]. در این روش ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر محلول نمک طلا با غلظت ۱ میلی‌مولار با هم‌زدن ملایم در یک ارلن‌مایر حرارت داده شد تا محلول به دمای جوش برسد. سپس ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ مولار سدیم سیترات به آن افزوده شد. پس از گذشت چند دقیقه محلول به رنگ قرمز در می‌آید. هم‌زدن محلول تا رسیدن به دمای محیط ادامه پیدا کرد. سپس محلول به مکانی بدون حرکت انتقال داده و در نهایت، تخلیص نانوذرات کروی طلا با سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد.

مشخصه‌یابی نانوذرات کروی طلا

به منظور ردیابی SPR نانوذرات کروی سنتز شده، طیف جذبی آنها در محدوده طول موج ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر با استفاده از طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش با طیف‌سنج Cary (Agilent Technologies؛ ایالات متحده) اندازه‌گیری شد. همچنین از تکنیک پراکندگی دینامیک نور مدل Zetasizer Nano ZS (Malvern؛ انگلستان) برای بررسی سنتز نانوذرات با شکل کروی مناسب استفاده شد. در نهایت، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل CM300 (فیلیپس؛ هلند) اندازه، توزیع و مورفولوژی نانوذرات کروی سنتز شده بررسی شد.

تعیین غلظت نانوذرات کروی

ابتدا تعداد اتم‌های طلا برای این سایز از نانوذره کروی با استفاده از معادله زیر به دست آمد:

معادله ۱

$$N = \frac{\pi \rho D^3}{6M}$$

در این معادله، N تعداد متوسط اتم‌های طلا برای هر نوع از نانوذره کروی، ρ دانسیته طلا (۱۹/۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب)، M وزن اتمی طلا (۱۹۷ گرم بر مول) و D متوسط قطر ذره است [31].

با استفاده از تکنیک اسپکتروسکوپی نشر اتمی، تعداد اتم‌های طلا در یک میلی‌لیتر طلا از محلول نانوذرات طلای سنتز شده محاسبه شد (N_{total}) و در نهایت غلظت مولار نانوذرات سنتز شده با استفاده از معادله زیر به دست آمد:

$$C = \frac{N_{total}}{NVN_A}$$

در این فرمول N تعداد متوسط اتم‌های طلا، V حجم محلول به لیتر و N_A عدد آووگادرو است.

براساس روابط بالا، غلظت نانوذرات طلا در ۱ OD برابر ۱۶/۱ نانومولار به دست آمد.

ساخت آنتاسنسور

ابتدا CEA و آنتامر در دمای ۳۷°C به مدت یک ساعت همراه با تکان دادن آرام انکوبه شد. این محلول به نانوذرات کروی طلا با غلظت ۱۶/۱ نانومولار افزوده شد. سپس ۱۰ میکرولیتر سدیم کلرید با غلظت نهایی ۵۰ میلی‌مولار به محلول واکنش اضافه و پس از گذشت ۵ ساعت، طیف SPR نانوذرات کروی طلا بررسی شد.

ردیابی باند SPR نانوذرات کروی در حضور CEA

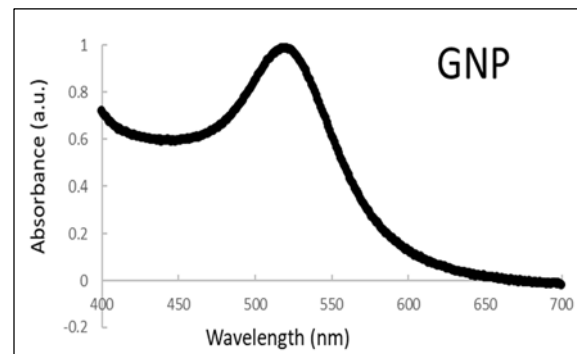
برای بررسی طیف SPR نانوذرات کروی طلا در حضور CEA، SPR نانوذرات با استفاده از طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش در محدوده ۴۰۰-۷۰۰ نانومتر ردیابی شد.

بررسی حساسیت و اختصاصیت حسگر

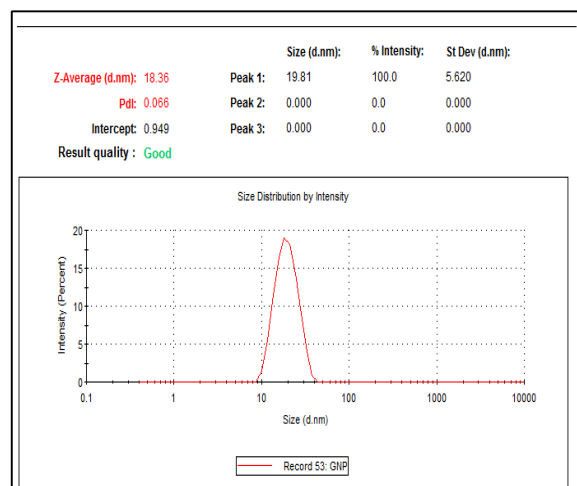
برای تست حساسیت، عملکرد حسگر طراحی شده در حضور غلظت‌های مختلف CEA (۵۰-۵۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر) بررسی شد. همچنین اختصاصیت آنتا‌حسگر CEA در حضور BSA، HSA و لیزوزیم با غلظت ۵۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر ارزیابی شد.

یافته‌ها و بحث

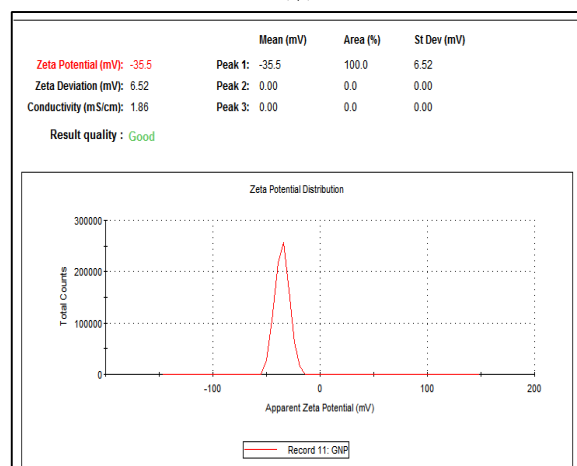
نمودار ۱- الف، طیف جذب بر حسب طول موج نانوذرات کروم طلا سنتز شده را نشان می‌دهد. این نانوذرات دارای باند جذبی در طول موج ۵۲۰ نانومتر هستند. شدت این پیک به غلظت نانوذرات کروم وابسته است. همچنین جایگاه پیک نمایانگر اندازه نانوذرات است. هر چقدر نانوذرات بزرگتر باشد پیک SPR به سمت طول موج‌های بلندتر جابه‌جا می‌شود.



(الف)



(ب)

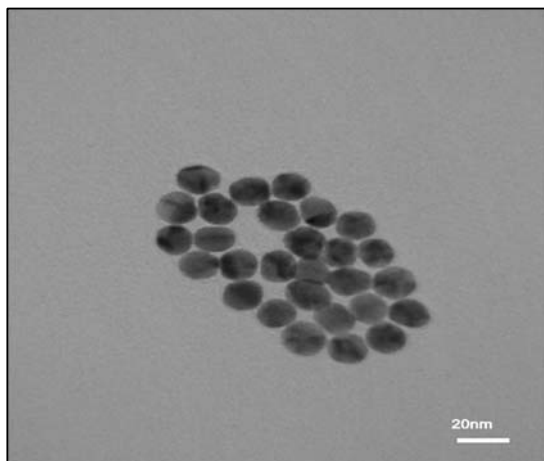


(ج)

نمودار ۱) طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش (الف)؛ نمودار DLS اندازه نانوذرات کروم سنتز شده (ب)؛ نمودار DLS بار نانوذرات کروم سنتز شده (ج)

معتبرترین روش برای اندازه‌گیری اندازه نانوذرات استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) است. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری می‌توان اطلاعاتی از قبیل بازدهی محصول، مورفولوژی، نحوه توزیع‌پذیری، اندازه دقیق و غلظت نانوذرات کروم شکل طلا به دست آورد. براساس تصاویر حاصل از TEM اندازه نانوذره کروم شکل طلا ۱۶ نانومتر است (شکل ۱).

با استفاده از تکنیک DLS می‌توان از طریق تغییرات قطر هیدرودینامیک، میانگین اندازه نانوذرات کروم را به دست آورد. همچنین یکنواختی سنتز یا به عبارتی کیفیت سنتز و بار نانوذرات را می‌توان با این تکنیک بررسی کرد. آنالیز DLS نانوذرات سنتز شده نشان داد که نانوذرات کروم با اندازه همگون و با یک اندازه نسبی مناسب هستند. اندازه نانوذرات کروم شکل طلا به‌طور میانگین ۱۹/۸۱ نانومتر و بار نانوذرات ۳۵- است (نمودارهای ۱- ب و ۱- ج).

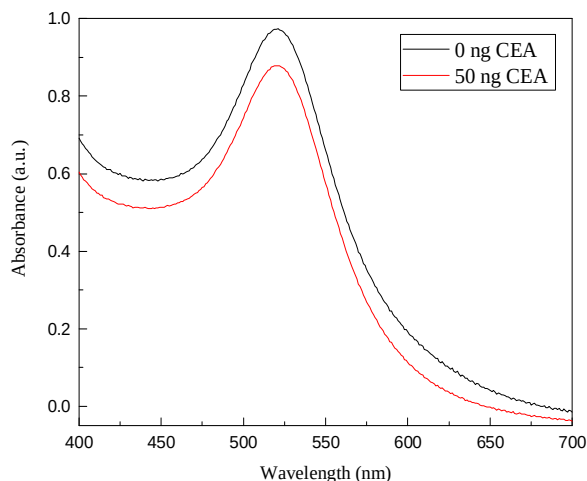


شکل ۱) عکس گرفته شده با میکروسکوپ TEM

تشخیص CEA با آپتاسر

در این مطالعه از تغییرات SPR نانوذرات کروم طلا برای تشخیص CEA استفاده شده است. نانوذرات کروم سیترا ته دارای بار منفی هستند که این بار موجب ایجاد دافعه می‌شود و در نهایت این نیروی دافعه از تجمع نانوذرات جلوگیری می‌کند. افزودن نمک در محیط تعادل بار روی نانوذرات را به هم می‌زند و باعث تجمع نانوذرات کروم می‌شود. افزودن توالی DNA تکرشته به محیط نانوذرات باعث می‌شود که شدت پیک SPR نانوذرات در حضور نمک ثابت بماند. درواقع DNA از طریق بازها جذب سطح نانوذرات طلا می‌شود^[32]. به عبارتی حضور توالی DNA تکرشته مانع از تجمع نانوذرات می‌شود و رنگ محلول هم تغییری نمی‌کند. در حضور CEA، DNA تکرشته به آن متصل می‌شود و با افزودن نمک نانوذرات تجمع پیدا می‌کنند و محلول به رنگ بنفش در می‌آید. از این ویژگی نانوذرات برای طراحی آپتاسرگر برای شناسایی CEA استفاده شد. طرح شماتیک از آپتاسرگر پیشنهادی برای شناسایی CEA در شکل ۲ ارایه شده است.

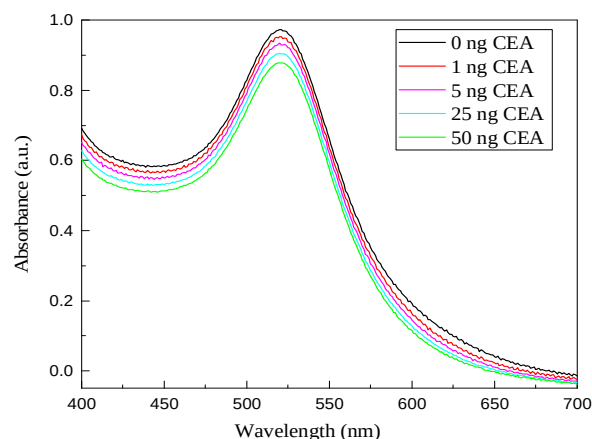
با افزودن CEA و آبتامر انکوبه شده به محلول حاوی نانوذرات کروی شکل طلا، SPR نانوذرات کروی طلا در حضور نمک تغییر می کند و به عبارت دیگر شدت پیک کاهش پیدا می کند. درواقع آبتامر به مولکول هدف می چسبد و توانایی اتصال آن از طریق گروه های نیترات به نانوذرات کاهش می یابد (نمودار ۳).



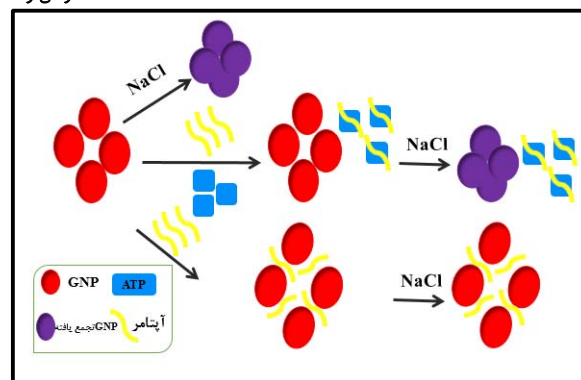
نمودار ۳) تغییرات SPR نانوذرات کروی طلا در حضور CEA با غلظت ۵۰ نانوگرم

حساسیت حسگر

به منظور بررسی حساسیت حسگر، طیف جذبی در حضور غلظت های مختلف نشانگر زیستی CEA بررسی شد. همان طور که نمودار ۴ مشاهده می شود، با افزایش غلظت نشانگر زیستی CEA شدت باند SPR نانوذرات کروی کاهش می یابد. این بدان معنی است که با افزایش غلظت نشانگر زیستی CEA، تعداد زیادی آبتامر به CEA متصل می شوند و بنابراین آبتامرهای کمتری به نانوذرات کروی طلا اتصال می یابند. در نتیجه در حضور نمک سدیم کلرید نانوذرات کروی شکل طلا تمایل به تجمع دارند و این تمایل به صورت کاهش شدت باند SPR در طیف نمایان می شود. در نهایت حساسیت حسگر با استفاده از داده های نمودار ۴ محاسبه شد. میزان حساسیت حسگر فوق ۲۲/۷۵ نانوگرم بر میلی لیتر است (نمودار ۵).

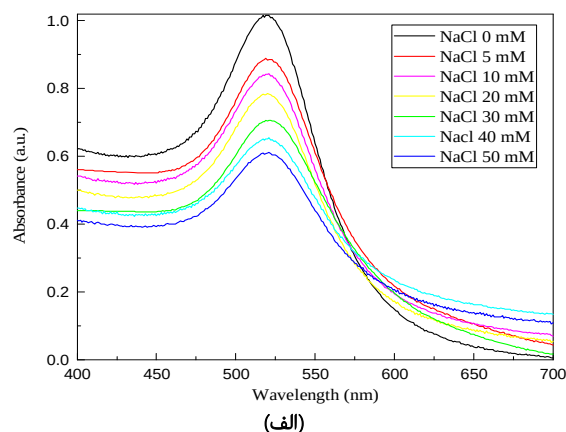


نمودار ۴) تشخیص غلظت های مختلف CEA (نانوگرم)

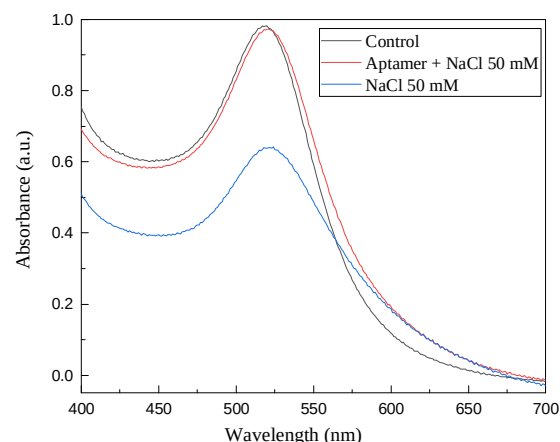


شکل ۲) طرح شماتیک آبتاحسگر نوری

ابتدا غلظت نمک برای تجمع نانوذرات کروی شکل طلا به دست آمد. به این ترتیب که در حضور غلظت های مختلف نمک سدیم کلرید تغییرات باند SPR و رنگ محلول بررسی شد. نمودار ۲- الف نشان می دهد که با افزودن نمک با غلظت ۵۰ میلی مولار، نانوذرات تجمع پیدا می کنند و طیف SPR آن تغییر می کند. با افزودن آبتامر به محیط، نانوذرات در مقابل نمک مقاوم می شوند و شدت باند SPR کمتر تغییر می کند (نمودار ۲- ب). درواقع توالی DNA به نانوذرات متصل و با این کار فاصله بین نانوذرات حفظ و مانع تجمع آنها می شود.



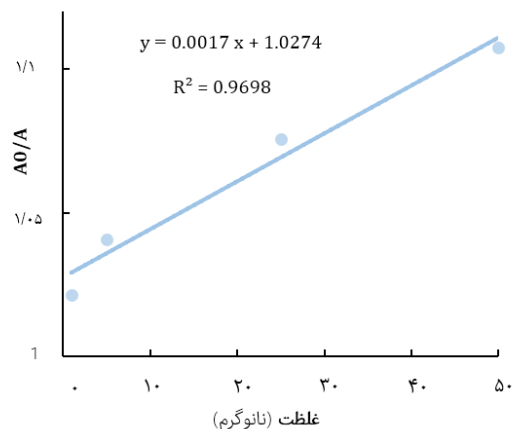
(الف)



(ب)

نمودار ۲) تغییرات SPR نانوذرات کروی طلا در حضور غلظت های مختلف نمک سدیم کلرید (الف) و در حضور آبتامر با افزودن نمک با غلظت ۵۰ میلی مولار (ب)

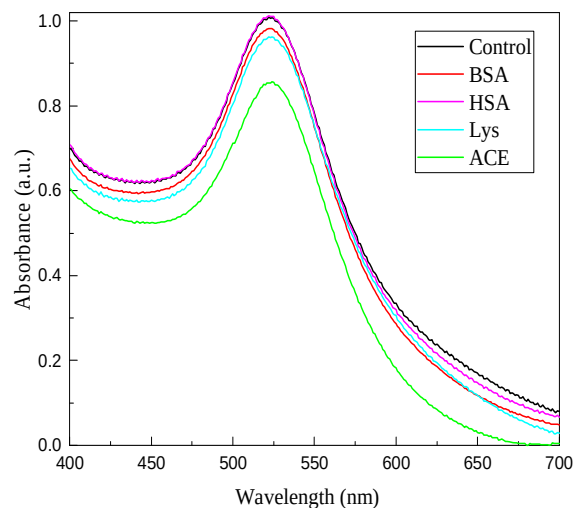
ویژگی‌های مهم یک حسگر مناسب می‌توان به سهولت استفاده، ارزان بودن و پاسخ سریع اشاره کرد. در حسگر طراحی‌شده برای شناسایی نشانگر زیستی CEA، از خاصیت پلاسمونیک نانوذرات کروم شکل طلا برای شناسایی استفاده شده است. نانوذرات طلا با دارا بودن این مشخصه به تغییرات محیطی حساس هستند و این حساسیت با تغییر شدت پیک و یا جابه‌جایی طول موج در طیف SPR قابل مشاهده است. در حضور آبتامر، این نانوذرات حساسیت کمتری به تغییرات محیطی نشان می‌دهند. با افزودن نشانگر زیستی CEA، آبتامر به نشانگر متصل می‌شود و حسگر به تغییرات محیط واکنش می‌دهد. بنابراین این حسگر می‌تواند در آینده به‌عنوان یک حسگر ساده، ارزان و دارای ویژگی سهولت در استفاده به کار رود.



نمودار ۵) محاسبه حساسیت حسگر

اختصاصیت حسگر

اختصاصیت حسگر در حضور نشانگر زیستی CEA، لیزوزیم، HSA و BSA مورد مطالعه قرار گرفت. همان‌طور که در نمودار ۶ مشاهده می‌شود، در حضور پروتئین‌های کنترل کاهش شدت جذبی کمتری اتفاق می‌افتد. به این دلیل که توالی آبتامر به‌طور اختصاصی به CEA متصل می‌شود. بنابراین این آبتامر توانایی اتصال به پروتئین‌های کنترل را ندارد و در این صورت آبتامر به نانوذرات کروم طلا متصل باقی می‌ماند و با افزودن نمک شدت پیک تغییرات کمتری را نشان می‌دهد.



نمودار ۶) آزمون اختصاصیت تشخیص CEA

نتیجه‌گیری

حسگرهای مختلفی برای شناسایی نشانگر زیستی CEA ساخته شده‌اند. با این حال بسیاری از این حسگرها نیازمند روش‌های پیچیده شناسایی و ابزارهای قوی هستند. در حالی که با توجه به اهمیت شناسایی سریع این نشانگر در تشخیص بیماری سرطان لازم است تولید حسگرهایی با خصوصیات نظیر عملکرد سریع، حساسیت و اختصاصیت بالا و مقرون‌به‌صرفه بودن توسعه یابد. از

تشکر و قدردانی: مطالعه حاضر در دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. از معاونت پژوهشی این دانشگاه برای حمایت مالی در انجام این مطالعه کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

تأییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشد.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: فضه امانی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۴۰٪)، طاهره توحیدی‌مقدم (نویسنده دوم)، تحلیلگر آماری (۱۰٪)، زینب باقری (نویسنده سوم)، تحلیلگر آماری (۱۰٪)، نسرين فراهانی (نویسنده چهارم)، روش‌شناس (۵٪)، بیژن رنجبر (نویسنده پنجم)، نگارنده مقدمه/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۳۵٪)

منابع مالی: حمایت مالی مطالعه حاضر توسط معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

منابع

- Faridi SH, Khan MA, Siddiqui B, Maheshwari V, Aggarwal T. Role of serum carcinoembryonic antigen (CEA) as a tumor marker in breast cancer. *Int J Adv Med Health Res.* 2014;1(2):57-60.
- Serdarević N, Mehanović S. The possible role of tumor antigen CA 15-3, CEA and ferritin in malignant and benign disease. *J Health Sci.* 2012;2(2):138-43.
- Hoskovec D, Varga J, Konečná E, Antoř F. Levels of CEA and Ca 19-9 in the sera and peritoneal cavity in patients with gastric and pancreatic cancers. *Acta Cirurgica Brasileira.* 2012;27(6):410-6.
- Pavlopoulou A, Scorilas A. A comprehensive phylogenetic and structural analysis of the carcinoembryonic antigen (CEA) gene family. *Genome Biol Evol.* 2014;6(6):1314-26.
- Fakih MG, Padmanabhan A. CEA monitoring in colorectal cancer. What you should know. *Oncology.* 2006;20(6):579-87.
- Wang WS, Lin JK, Lin TC, Chiou TJ, Liu JH, Yen CC, et al. Plasma von Willebrand factor level as a prognostic indicator of patients with metastatic colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2005;11(14):2166-70.
- Sørensen CG, Karlsson WK, Pommergaard HC, Burcharth J, Rosenberg J. The diagnostic accuracy of carcinoembryonic antigen to detect colorectal cancer recurrence-A systematic review. *Int J Surg.* 2016;25:134-44.

- technologies for detection of biological threat agents. *Biosens Bioelectron.* 2000;15(11-12):549-78.
- 21- Smith CL, inventor. Compositions comprising nucleic acid aptamers. Patent U.S. 0254901 A1. 2010 Oct 7.
- 22- Wu Z, Li H, Liu Z. An aptasensor for carcinoembryonic antigen based on upconversion fluorescence resonance energy transfer. *Sens Actuators B Chem.* 2015;206:531-7.
- 23- Quan H, Zuo Ch, Li T, Liu Y, Li M, Zhong M, et al. Electrochemical detection of carcinoembryonic antigen based on silver nanocluster/horseradish peroxidase nanocomposite as signal probe. *Electrochimica Acta.* 2015;176:893-7.
- 24- Zhou ZM, Feng Z, Zhou J, Fang BY, Qi XX, Ma ZY, et al. Capillary electrophoresis-chemiluminescence detection for carcino-embryonic antigen based on aptamer/graphene oxide structure. *Biosens Bioelectron.* 2015;64:493-8.
- 25- Zhao W, Chiuman W, Brook MA, Li Y. Simple and rapid colorimetric biosensors based on DNA aptamer and noncrosslinking gold nanoparticle aggregation. *ChemBioChem.* 2007;8(7):727-31.
- 26- Liu J, Lu Y. Fast colorimetric sensing of adenosine and cocaine based on a general sensor design involving aptamers and nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition.* 2006;45(1):90-4.
- 27- Hu M, Chen J, Li ZY, Au L, Hartland GV, Li X, et al. Gold nanostructures: Engineering their plasmonic properties for biomedical applications. *Chem Soc Rev.* 2006;35(11):1084-94.
- 28- Yuan Z, Hu CC, Chang HT, Lu Ch. Gold nanoparticles as sensitive optical probes. *Analyst.* 2016;141(5):1611-26.
- 29- Hao F, Nehl CL, Hafner JH, Nordlander P. Plasmon resonances of a gold nanostar. *Nano Lett.* 2007;7(3):729-32.
- 30- Mirkin CA, Letsinger RL, Mucic RC, Storhoff JJ. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. *Nature.* 1996;382(6592):607-9.
- 31- Liu X, Atwater M, Wang J, Huo Q. Extinction coefficient of gold nanoparticles with different sizes and different capping ligands. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2007;58(1):3-7.
- 32- Li H, Rothberg L. Colorimetric detection of DNA sequences based on electrostatic interactions with unmodified gold nanoparticles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(39):14036-9.
- 8- Sato K, Tokeshi M, Kimura H, Kitamori T. Determination of carcinoembryonic antigen in human sera by integrated bead-bed immunoassay in a microchip for cancer diagnosis. *Anal Chem.* 2001;73(6):1213-8.
- 9- Martin F, Martin MS. Radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen in extracts of human colon and stomach. *Int J Cancer.* 1972;9(3):641-7.
- 10- Matsumoto K, Yuan J, Wang G, Kimura H. Simultaneous determination of α -fetoprotein and carcinoembryonic antigen in human serum by time-resolved fluoroimmunoassay. *Anal Biochem.* 1999;276(1):81-7.
- 11- Chon H, Lee S, Son SW, Oh CH, Choo J. Highly sensitive immunoassay of lung cancer marker carcinoembryonic antigen using surface-enhanced Raman scattering of hollow gold nanospheres. *Anal Chem.* 2009;81(8):3029-34.
- 12- Tang D, Ren J. In situ amplified electrochemical immunoassay for carcinoembryonic antigen using horseradish peroxidase-encapsulated nanogold hollow microspheres as labels. *Anal Chem.* 2008;80(21):8064-70.
- 13- He X, Yuan R, Chai Y, Shi Y. A sensitive amperometric immunosensor for carcinoembryonic antigen detection with porous nanogold film and nano-Au/chitosan composite as immobilization matrix. *J Biochem Biophys Methods.* 2008;70(6):823-9.
- 14- Lim YC, Kouzani AZ, Duan W. Aptasensors design considerations. *International Symposium on Intelligence Computation and Applications*, 2009 October 23-25, Huangshi, China. Berlin: Springer; 2009.
- 15- Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature.* 1990;346(6287):818-22.
- 16- Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science.* 1990;249(4968):505-10.
- 17- Jayasena SD. Aptamers: An emerging class of molecules that rival antibodies in diagnostics. *Clin Chem.* 1999;45(9):1628-50.
- 18- Cho EJ, Lee JW, Ellington AD. Applications of aptamers as sensors. *Annu Rev Anal Chem.* 2009;2:241-64.
- 19- Song Sh, Wang L, Li J, Fan Ch, Zhao J. Aptamer-based biosensors. *TrAC Trends Anal Chem.* 2008;27(2):108-17.
- 20- Iqbal SS, Mayo MW, Bruno JG, Bronk BV, Batt CA, Chambers JP. A review of molecular recognition