Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

Design, Synthesis and Evaluation of a Prostate-Specific Antigen Rapid Test Strip

M. Shahri (MSc)[1], E. Ferdosi-Shahandashti (PhD)[*2], G. A. Kardar (PhD)[3]

1.Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.
2.Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.
3.Immunology, Asthma & Allergy Research Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran.

•Corresponding Author: E. Ferdosi-Shahandashti (PhD)
Address: Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.
Tel: +98 (11) 32199592. **E-mail:** elaheh.ferdosi@yahoo.com

Article Type
Research Paper

Received:
Nov 16th 2024
Revised:
Dec 30th 2024
Accepted:
Jan 20th 2025

ABSTRACT

Background and Objective: Early detection of all cancers, including prostate cancer, is considerably helpful in their treatment. In addition to clinical examination of the prostate gland, prostate-specific antigen (PSA) is also used to diagnose prostate cancer. Methods such as ELISA, PCR, radioimmunoassay, etc. have been used to detect PSA, which, in addition to being expensive, require an experienced technician, complex equipment, and a lot of time. The aim of this study is to design and produce a rapid test for PSA measurement in Iran, contribute to its production, reduce imports and prevent capital outflow.

Methods: In this experimental study, colloidal gold nanoparticles were covalently conjugated with monoclonal antibodies, and different components of the diagnostic test strip were examined in terms of type and pore size, and different parts of the test strip were assembled and the antibodies were loaded onto the substrate. Serum samples from healthy subjects and patients with different serum dilutions ranging from 1 to 9 ng/mL for prostate-specific antigen were obtained from a diagnostic laboratory which had previously been measured with VIDAS. Then, the sera were measured with the designed test strip. Finally, the test strip was examined for accuracy and precision.

Findings: In measuring different serum dilutions of prostate-specific antigen from 1 to 9 ng/mL, the test strip designed in this study showed similar results to the commercial kit, demonstrating the accuracy and sensitivity of the test strip designed in this study.

Conclusion: A rapid prostate cancer detection test strip based on PSA measurement was designed and prototyped.

Keywords: *Prostate Cancer, Gold Nanoparticles, Prostate-Specific Antigen, Lateral Flow Immunoassay.*

Cite this article: Shahri M, Ferdosi-Shahandashti E, Kardar GA. Design, Synthesis and Evaluation of a Prostate-Specific Antigen Rapid Test Strip. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2025; 27: e64.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.64]

Copyright © 2024 Babol University of Medical Sciences. Published by Babol University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

طراحی، سنتز و ارزیابی نوار تست تشخیص سریع آنتی ژن اختصاصی پروستات

مطهره شهری (MSc)[1]، الهه فردوسی شاهاندشتی (PhD)[2]*، غلامعلی کاردر (PhD)[3]

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۲. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۳. مرکز تحقیقات ایمونولوژی، آسم و آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

نوع مقاله
مقاله پژوهشی

دریافت:
۱۴۰۳/۸/۲۶

اصلاح:
۱۴۰۳/۱۰/۱۰

پذیرش:
۱۴۰۳/۱۱/۱

چکیده

سابقه و هدف: تشخیص زودهنگام همه سرطان‌ها از جمله سرطان پروستات به روند درمان آن‌ها کمک زیادی می‌کند. برای تشخیص سرطان پروستات علاوه بر معاینه بالینی غده پروستات، از آنتی ژن اختصاصی پروستات (Prostate Specific Antigen= PSA) نیز استفاده می‌شود. روش‌هایی مانند ELISA، PCR، رادیوایمونواسی و ...، برای تشخیص PSA استفاده شده‌اند که علاوه بر هزینه بالا، نیاز به تکنیسین مجرب، ابزار پیچیده و زمان زیادی دارد. هدف از این مطالعه، تلاش برای طراحی و تولید تست سریع برای سنجش PSA در داخل کشور و کمک به تولید و کاهش واردات و حفظ ارز در داخل کشور می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ابتدا نانوذره طلا کلوئیدی به روش کووالانسی با آنتی بادی مونوکلونال کونجوگه و سپس اجزای مختلف نوار تست تشخیصی از نظر جنس و اندازه منافذ بررسی و قسمت‌های مختلف نوار تست سرهم بندی شد و آنتی بادی‌ها روی بستر بارگذاری گردید. نمونه‌های سرمی افراد سالم و بیمار با رقت‌های سرمی مختلف از ۱ تا ۹ نانوگرم در میلی‌لیتر از نظر آنتی ژن اختصاصی پروستات از آزمایشگاه تشخیصی که از قبل با VIDAS اندازه گیری شده بود، تهیه گردید. در نهایت، سرم‌ها با نوار تست طراحی شده، سنجیده شد. در نهایت، نوار تست از نظر دقت و صحت بررسی شد.

یافته‌ها: در اندازه گیری رقت‌های مختلف سرمی آنتی ژن اختصاصی پروستات از ۱ تا ۹ نانوگرم در میلی‌لیتر، نوار تست طراحی شده در این تحقیق نتایج مشابه کیت تجاری را نشان داد که دقت و حساسیت نوار تست طراحی شده در این تحقیق را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: نوار تست تشخیص سریع سرطان پروستات بر اساس اندازه گیری PSA، طراحی و نمونه اولیه ساخته شد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پروستات، نانوذره طلا، آنتی ژن اختصاصی پروستات، تست نواری ایمونو اسی جریان جانبی.

استناد: مطهره شهری، الهه فردوسی شاهاندشتی، غلامعلی کاردر. طراحی، سنتز و ارزیابی نوار تست تشخیص سریع آنتی ژن اختصاصی پروستات. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۱۴۰۴؛ ۲۷: e۶۴.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.64]

▣ این مقاله مستخرج از پایان نامه مطهره شهری دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی پزشکی و طرح تحقیقاتی به شماره ۷۲۴۱۳۳۳۷۷ دانشگاه علوم پزشکی بابل می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر الهه فردوسی شاهاندشتی
آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی بابل، پژوهشکده سلامت، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی. تلفن: ۳۲۱۹۹۵۹۲-۰۱۱ رایانامه: elaheh.ferdosi@yahoo.com

مقدمه

آنتی ژن اختصاصی پروستات (Prostate Specific Antigen= PSA) یک سرین پروتئاز است که توسط سلول‌های اپیتلیال پروستات تولید می‌شود و وظیفه اصلی آن مایع سازی است. در حال حاضر PSA یک نشانگر زیستی برای تشخیص و غربالگری سرطان پروستات است و اولین بیومارکر سرطان تایید شده توسط FDA است .مقدار و ایزوفرم‌های سرمی PSA مردانه، امکان تمایز بین کارسینوم و بیماری التهابی خوش‌خیم پروستات را فراهم می‌کند. در ابتدا تصور می‌شد که PSA فقط توسط پروستات تولید می‌شود و بنابراین پروتئینی که منحصراً در مردان بیان می‌شود. اما طبق گزارش‌ها، PSA پروتئینی است که توسط چندین بافت غیر پروستاتی نه تنها در مردان بلکه در زنان نیز بیان می‌شود. برخی از محققین همچنین گزارش می‌دهند که در زنان، بیان این پروتئین ارتباط زیادی با سرطان سینه و روده بزرگ دارد و بنابراین می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی احتمالی برای تشخیص زودهنگام، تشخیص و پیش آگهی این سرطان‌ها در زنان عمل کند (۱).

اولین گزارش در مورد خواص آنتی ژن‌ها در پروستات توسط اورولوژیست آمریکایی، Flocks، در سال ۱۹۶۰ داده شد (۳و۲). در سال ۱۹۶۶، Hara، یک دانشمند پزشکی قانونی ژاپنی، پروتئینی را گزارش کرد و تا حدی آن را "گاما–سمینوپروتئین" نامید. او ارزش احتمالی آن را به عنوان شواهد پزشکی قانونی در پرونده های تجاوز جنسی پیشنهاد کرد (۴). در سال ۱۹۷۰و ۱۹۷۳، Li و همکاران (۶و۵) با انجام تحقیقاتی در مورد ناباروری مردان، آنتی‌ژن‌هایی را در مایع منی انسان گزارش کردند، بعداً مشخص شد که یکی از آن‌ها دارای همان توالی اسید آمینه PSA است. در سال ۱۹۷۰، Ablin و همکارانش گزارش دادند که دو آنتی ژن خاص برای پروستات انسان پیدا کردند که یکی از آن‌ها متمایز از اسید فسفاتاز بود (۸و۷).

سرطان پروستات دومین تومور شایع در بین مردان در سراسر جهان است (۹). سرطان پروستات به طور کلی بدون علامت است تا زمانی که به مرحله پیشرفته برسد. بنابراین، امکان غربالگری برای تشخیص زودهنگام آن به منظور کاهش احتمال مرگ ناشی از سرطان پروستات از اهمیت بالایی برخوردار است. غربالگری معمول برای سرطان پروستات به اندازه گیری سطح آنتی ژن اختصاصی پروستات در خون و معاینه دیجیتال رکتوم متکی است (۱۰). مردانی که نتیجه آزمایش PSA مثبت دارند (سرم PSA بالاتر از ۴ نانوگرم در میلی‌لیتر) معمولاً تحت بیوپسی پروستات با هدایت اولتراسوند ترانس رکتال قرار می‌گیرند که استاندارد طلایی برای تشخیص PCa است (۱۱). تنها در صورت تشخیص زودهنگام و به موقع می‌توان امیدوار بود که سرطان محدود به غده پروستات بوده، متاستاز نداشته باشد و به طور کامل قابل درمان باشد (۱۳و۱۲). بر اساس تحقیقات انجام شده، استفاده از تست تومور مارکر PSA آنتی ژن اختصاصی پروستات در کنار علائم بالینی پروستات برای تشخیص سرطان پروستات توصیه می‌شود. نشان داده شده است که PSA قابل اعتمادترین نشانگر تومور برای تشخیص سرطان پروستات در مراحل اولیه و نظارت بر عود بیماری پس از درمان است (۱۴).

امروزه روش‌های کلاسیک مختلفی مانند ایمونواسی آنزیمی، واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی، ایمونواسی نشان‌دار و حسگرهای ایمنی الکتروشیمیایی برای تشخیص بیومارکر PSA مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اما این روش‌ها پرهزینه و دشوار بوده و نیاز به ابزار پیچیده و زمان طولانی را می‌توان از معایب آن‌ها نام برد (۱۶و۱۵). اندازه گیری سطوح PSA به طور گسترده‌ای برای شناسایی مردان با خطر افزایش یافته سرطان پروستات استفاده می‌شود. در حال حاضر، آزمایش PSA در آزمایشگاه‌های متمرکز انجام می‌شود که با زمان طولانی بین خون‌گیری و در دسترس بودن مقدار PSA همراه است. بر این اساس، توسعه تکنیک‌های ساده و در دسترس برای تشخیص و درمان زودهنگام PSA در این بیماران بسیار مهم است. در سال‌های اخیر، به منظور شناسایی سریع ترکیبات فعال بیولوژیکی و تشخیص بیماری‌ها، تکنیک‌های سنجش ایمونوکروماتوگرافی نوری یا سنجش جریان جانبی به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است. یکی از مزایای این روش‌ها تشخیص بسیار ساده، هزینه کم و زمان تجزیه و تحلیل کوتاه نتایج است (۱۹–۱۷).

از دیگر مزایای این روش عدم نیاز به تجهیزات گران قیمت و تکنسین مجرب می‌باشد و هر فردی می‌تواند آن را به راحتی در منزل انجام دهد (۲۰). مزایا و معایب روش سنجش جریان جانبی در جدول ۱ بررسی شده است (۲۱). سنجش ایمنی مبتنی بر سرم یا پلاسما که در حال حاضر موجود است، زمان‌بر بوده و نیاز به تجهیزات فنی پیچیده دارد. بنابراین، آزمایش‌های نواری مختلفی برای تعیین کیفی و نیمه کمی PSA بر اساس اندازه‌گیری‌های ایمونوکروماتوگرافی سرم یا خون کامل ایجاد شده است (۲۲و۲۱).

تست‌های سریع موجود در ایران برای سنجش این آنتی ژن از برند های خارجی و به صورت وارداتی هستند؛ بنابراین هدف از انجام این مطالعه، تلاش برای طراحی و تولید تست سریع برای سنجش آنتی ژن اختصاصی پروستات در داخل کشور و کمک به تولید و کاهش واردات و حفظ ارز در داخل کشور می‌باشد.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.64]

جدول ۱. مزایا و معایب روش سنجش جریان جانبی

مزایا	معایب
فرآیند تک مرحله‌ای که مرحله شستشو ندارد.	تک مرحله‌ای بودن
سریع، کم هزینه و حجم نمونه کم	حجم نامناسب نمونه در دقت سنجش تاثیر گذار است.
نتیجه کیفی یا نیمه کمی	محدودیت در حجم نمونه سبب محدود شدن حساسیت تست می‌گردد.
امکان افزایش پاسخ با واکنش آنزیمی وجود ندارد.	آماده سازی خوب آنتی بادی الزامی است.
روش تست ساده	زمان آنالیز نمونه وابسته به ویسکوزیته آن است.
پروتئین‌ها، هاپتن‌ها، نوکلئیک اسیدها و امپلیکون‌ها قابل شناسایی هستند.	احتمال انسداد منافذ به دلیل اجزای نمونه
پیش تیمار برای نمونه‌های مایع نیاز نیست.	پیش تیمار برای نمونه‌های غیرمایع نیاز است.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی-کاربردی، در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بابل با کد IR.MUBABOL.REC.1400.135 تایید شد.

تهیه مواد شیمیایی: نانوذرات طلا (AuNP) (شرکت نانومواد ایرانیان، ایران)، آنتی بادی ضد PSA انسانی (شرکت زیست فناوران، ایران)، آنتی بادی پلی کلونال (شرکت زیست فناوران، ایران) و غشای نیتروسلولزی و غشای سلولزی (شرکت آئل طب راد مد، ایران) تهیه گردید.

طرز تهیه محلول ۱ میلی مولار Phosphate Buffer Saline(PBS): مقادیر 3.2gr Nacl+0.08gr KCL+0.868gr Na2HPO4.7H2O+0.103gr KH2PO4 با آب مقطر به حجم ۴۰ سی سی رسانده شد و سپس pH آن در ۷/۴ تنظیم گردید.

طرز تهیه بافرپدنمونه: محلولی به حجم ۱۰ سی سی (شرکت شفامل، ایران) تهیه گردید و جهت تیمار پد نمونه استفاده شد.

طرز تهیه بافر تیمار بستر نیتروسلولزی: محلولی به حجم ۲۵ سی سی (شرکت شفامل، ایران) تهیه شد و جهت تیمار بستر استفاده گردید.

جمع آوری نمونه‌ها: نمونه‌های سرم افراد سالم و بیماران مبتلا به بدخیمی پروستات و همچنین کنترل مثبت الایزا و محلول کالیبراسیون اتوآنالایزر PSA از آزمایشگاه تشخیصی طبی ابن سینا و آزمایشگاه تشخیصی طبی رازی بابل تهیه شد.

تهیه کونژوگه‌های AuNp-Anti PSA Antibody: برای این منظور نانوذرات ۲۵-۲۰ نانومتری با اتیلن گلیکول (شرکت سیگما، آلمان) مخلوط و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه شد. در این مرحله، محلول EDC (شرکت شفامل، ایران) به نانوذره و محلول اتیلن گلیکول و سپس محلول NHS (شرکت شفامل، ایران) به مخلوط اضافه شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق با تکان دادن ملایم انکوبه و پس از انکوباسیون با دور ۳۶۰۰ سانتریفیوژ و مایع رویی دور ریخته شد. به رسوب نهایی پس از حل شدن در PBS آنتی بادی ضد PSA اضافه و به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق انکوبه شد (۲۳و۲۱).

پیوند کووالانسی به طور معمول از طریق شیمی پیوند متقابل کربو دی ایمید با استفاده از (3dimethylamino propyl)-3ethylcarbodiimide hydrochloride-N hydroxysuccinimide (EDC/NHS) ایجاد می‌شود. پیش از این، این روش برای اتصال موثر آمین‌های اولیه بر روی آنتی‌بادی‌ها به AuNPهای عامل‌دار در انتهای کربوکسیل استفاده شده است. آمین‌های اولیه روی یک مولکول آنتی‌بادی به عنوان مکان‌های شناسایی عمل می‌کنند که می‌توانند آنتی ژن‌ها را شناسایی کرده و به آن‌ها متصل شوند (۲۴).

آماده سازی پد نمونه: پد نمونه به ابعاد ۱×۰/۴سانتی‌متر بریده شده و با بافر مخصوص برای پد نمونه تیمار گشته و سپس در دمای محیط خشک می‌گردد (۱۴).

آماده سازی پد مزدوج: پد مزدوج یا همان پدکونژوگه با عرض ۰/۴ سانتی‌متر و طول ۱ سانتی‌متر برش داده شد. از محلول کونژوگه روی بستر ریخته شد تا در دمای اتاق خشک گردد (۲۵).

آماده سازی غشای نیتروسلولزی برای جریان جانبی: بستر نیتروسلولزی به ابعاد ۲/۵×۰/۴ سانتی‌متر برش داده شد و دو ناحیه برای خطوط تست و کنترل بر روی آن تعیین گردید.

آماده سازی نواحی تست و کنترل: پس از آماده سازی بستر نیتروسلولز آنتی بادی مونوکلونال و آنتی بادی پلی کلونال روی خط تست و کنترل بارگذاری شد (۲۵).

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.64]

مونتاژ کردن (سرهمبندی بسترها): پد نمونه، پد کونژوگه و در نهایت بستر نیتروسلولزی، سر همبندی گردید (۲۵).

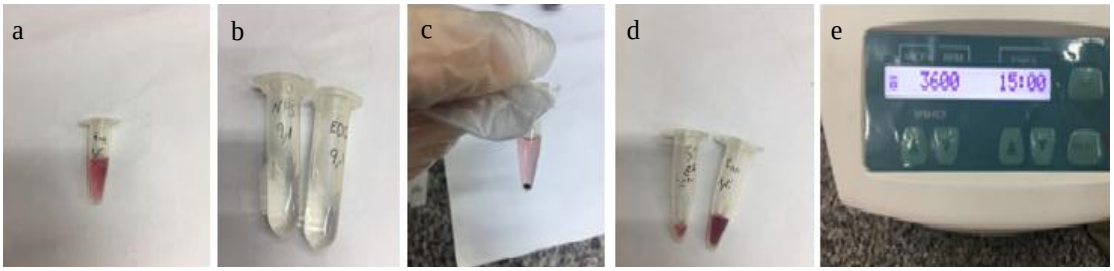
فرآیند ایمونواسی جریان جانبی: ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه سرم به آرامی روی پد نمونه ریخته شد تا در امتداد نوار تست حرکت کند. محلول از پد نمونه به پد کونژوگه منتقل شده و محلول کونژوگه را از پد کونژوگه شسته و با خود به بستر نیتروسلولزی برده است. در آن ناحیه واکنش در خط آزمایش و کنترل انجام شد.

تست نوار ایمونواسی جریان جانبی با نمونه های بالینی: نمونه‌های سرمی بیماران مبتلا به سرطان پروستات و سالم از نظر ابتلا به این سرطان، که قبلاً توسط دستگاه VIDAS اندازه‌گیری شدند، توسط نوار تست طراحی‌شده و سنتز شده در این مطالعه، ارزیابی شدند.

اعتبار سنجی تست: برای این منظور نوار تست طراحی شده در این مطالعه با نوار تست برند ABON Rapid Test مقایسه شد و چندین نمونه سرم با غلظت‌های مختلف توسط هر دو تست اندازه گیری شد.

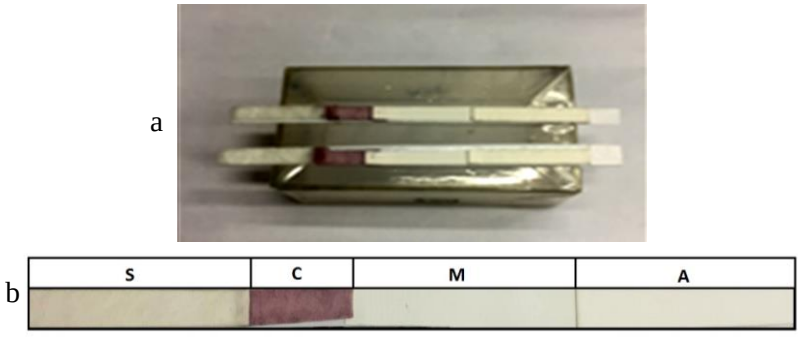
یافته ها

تهیه کونژوگه‌های AuNp-Anti PSA: در نتیجه کونژوگاسیون کووالانسی، محلولی پایدار بدون رسوب و با همان رنگ قرمز یاقوتی تشکیل شد و آنتی‌بادی‌ها با جهت گیری صحیح به نانوذرات متصل شدند (۲۷و۲۶) (شکل ۱).



شکل ۱. نمایی از اجرای روش کونجوگاسیون کووالانسی. a: نمایی از رنگ محلول کلوییدی نانوذره طلا، b: محلول‌های تازه تهیه شده از پودرهای EDC وNHS، c: نمایی از رسوب ایجاد شده از نانوذرات بعد از سانتریفیوژ، d: رسوب نانوذرات حل شده در PBS، e: نمایی از دور و زمان مناسب برای تشکیل رسوب در محلول کلوییدی نانوذره طلا

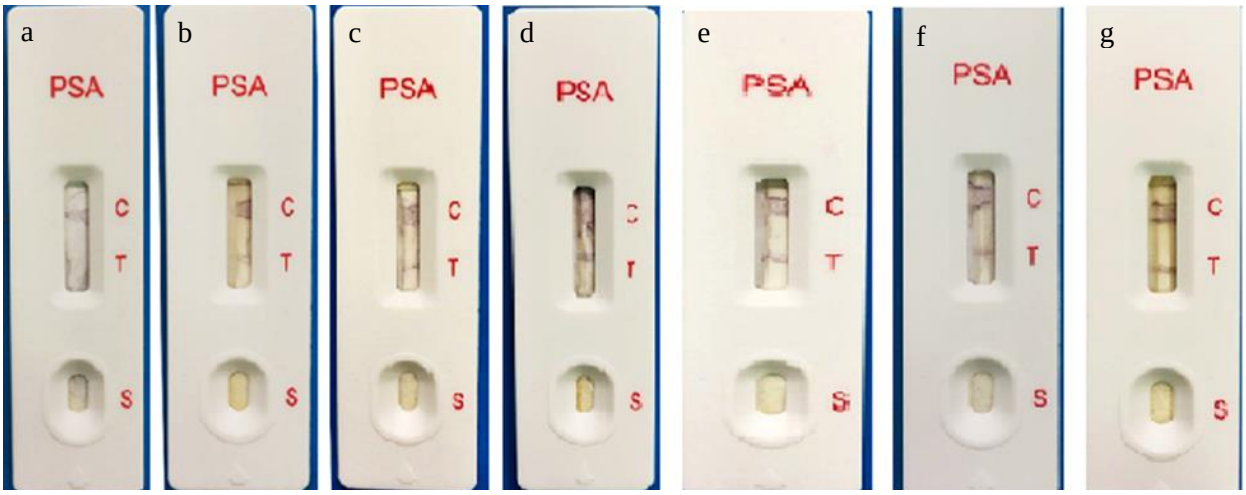
مونتاژ کردن (سرهمبندی): بهترین حالت حرکت نمونه در طول نوار تست زمانی بود که قسمت‌های مختلف نوار تست با نسبت طول و عرض یکسانی که در روش کار ذکر شد انتخاب شده و با یک نسبت و ترتیب مونتاژ می‌شدند (شکل ۲).



شکل ۲. a: نمای کلی نوار تست سرهمبندی شده، b. نمای جزیی از نوار تست سرهمبندی شده: S: پد نمونه، C: پد کونژوگه، M: بستر نیتروسلولزی، A: پد جاذب

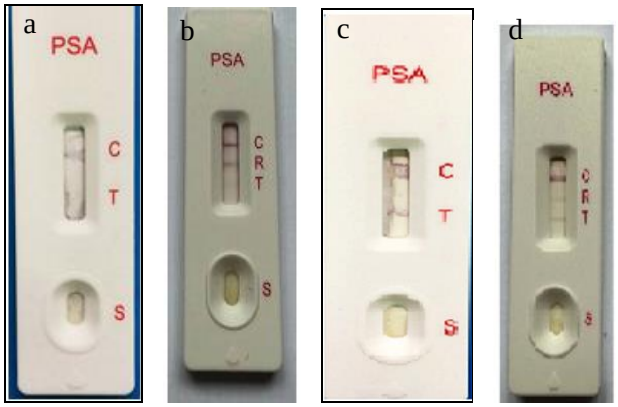
[DOI: 10.22088/jbums.27.1.64]

سنجش نوارتست LFIA با نمونه‌های بالینی: در نتیجه، سنجش جریان جانبی با افزایش غلظت PSA در نمونه‌های سرم، نوار پررنگ‌تر و واضح‌تری در خط آزمایش ایجاد شد و خط کنترل در همه سنجش‌ها تشکیل شد (شکل ۳).



شکل ۳. اندازه‌گیری نمونه‌های سرم با نوار تست طراحی شده در این مطالعه. a: سنجش نمونه سرم با غلظت ۱ng/ml، b: سنجش نمونه سرم با غلظت ۲ng/ml، c: سنجش نمونه سرم با غلظت ۳ng/ml، d: سنجش نمونه سرم با غلظت ۵ ng/ml، e: سنجش نمونه سرم با غلظت ۷ng/ml، f: سنجش نمونه سرم با غلظت ۸ng/ml، g: سنجش نمونه سرم با غلظت ۹ ng/ml

در اندازه گیری رقت‌های مختلف سرمی آنتی ژن اختصاصی پروستات از ۱ تا ۹ نانوگرم در میلی‌لیتر، نوار تست طراحی شده در این تحقیق نتایج مشابه کیت تجاری را نشان داد که دقت و حساسیت نوار تست طراحی شده در این تحقیق را نشان می‌دهد (شکل ۴).



شکل ٤. تصویری از مقایسه اندازه گیری توسط نوار تست طراحی شده دراین پژوهش و کیت برند ABON. a: سنجش سرم با غلظت 1ng/ml: PSA نوار تست طراحی شده در این مطالعه، b: سنجش سرم با غلظت 1ng/ml: PSA کیت ABON، c: سنجش سرم با غلظت 28ng/ml: PSA نوار تست طراحی شده در این مطالعه، d: سنجش سرم با غلظت 28ng/ml: PSA کیت ABON.

توضیحات تکمیلی:کیت ABON یک کیت نیمه کمی است و کیت طراحی شده در این طرح کیت کیفی می‌باشد. سرم با غلظتPSA:1ng/ml به منزله نمونه منفی است. سرم با غلظتPSA:28ng/ml به منزله نمونه مثبت است.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.64]

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه به روش بهینه کونجوگاسیون نانوذرات طلا با آنتی بادی ضد PSA و طراحی نوار تستی بر مبنای تکنیک ایمونواسی جریان جانبی که توانایی اندازه گیری آنتی ژن اختصاصی پروستات موجود در سرم را به روش کیفی دارد، دست یافتیم.

سرطان پروستات، به یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها و سومین علت مرگ ناشی از سرطان در میان مردان می‌باشد. از این رو تشخیص زودهنگام، قطعی و حساس این بیماری، جهت شروع به موقع درمان ضروری است. مطالعات قبلی نشان دادند که آنتی ژن اختصاصی پروستات (PSA) قابل اعتمادترین نشانگر تومور برای تشخیص سرطان پروستات در مراحل اولیه و نظارت بر عود بیماری پس از درمان است (۲۸). یک آزمایش ساده، کیفی و تک مرحله‌ای برای آنتی ژن اختصاصی پروستات (PSA Rapid Screen= PSA) برای افزایش جذب و کاهش هزینه برنامه غربالگری سرطان پروستات ارزیابی شده است. تست PSA Rapid Screen یک روش ایمونواسی کروماتوگرافی جریان جانبی است که به ترتیب برای سطوح ۴ ng/ml <PSA نتیجه مثبت یا منفی ایجاد می‌کند (۳۰و۲۹).

تست نقطه مراقبت (POC Point Of Care= POC) روش تشخیصی در تجزیه و تحلیل بالینی، ایمنی مواد غذایی و محیط زیست است که در مقایسه با آزمایشگاه‌های متمرکز، نتایج سریع را در زمان‌های کوتاه‌تری ارائه می‌دهد. دستگاه‌های (POC) مبتنی بر سنجش جریان جانبی (LFA) یکی از سریع‌ترین استراتژی‌های در حال رشد برای تجزیه و تحلیل کیفی و کمی هستند. برای استفاده از آنتی بادی‌ها در حسگرهای زیستی و دستگاه‌های حسگر، باید برهمکنش‌های مطلوب بستر ایجاد شود (۱۸).

مولکول‌های آنتی بادی را می‌توان از طریق جذب شیمیایی و عملکردهای مختلف مانند سیستئین یا گروه‌های آمین یا برهمکنش‌های الکترواستاتیکی با استفاده از برهمکنش‌های یونی یا هدف آبگریز به AuNP های دارای عملکرد سطحی متصل کرد. AuNP های متصل به آنتی بادی باید تحت طیف وسیعی از شرایط شیمی مرطوب (مانند pH، غلظت نمک، و نوع یا دما) پایدار باشند. بنابراین پیوند کووالانسی ترجیح داده می‌شود. در رقابت مستقیم، پیوندهای آمیدی قوی از طریق گروه‌های کربوکسیل پگیله شده در اطراف AuNPها، عامل‌سازی جهتی را با قابلیت دسترسی به مکان عملکردی افزایش داده‌اند (۳۲و۳۱).

دامنه جهت گیری‌ها و چگالی بسته بندی ناشی از اتصال عرضی نانوذرات به آنتی بادی‌ها در انتهای آمین اولیه می‌تواند به طور بالقوه منجر به ایجاد آنتی بادی‌هایی با اتصال ضعیف به آنتی ژن‌های هدف آن‌ها شود. با وجود اشکالات قابل توجه، مانند جهت گیری نامطلوب آنتی بادی‌ها، کونژوگاسیون EDC/NHS دارای مزیت متمایز ارائه یک پیوند کووالانسی پایدار و سازگار است (۳۳). در این مطالعه نیز از روش کونجوگاسیون کووالانسی EDC/NHS استفاده گردید.

آزمایش PSA به طور گسترده‌ای استفاده شده است. اگرچه غربالگری انبوه برای سرطان پروستات یکی از بحث برانگیزترین موضوعات در انکولوژی است، دو مطالعه بالینی بزرگ و با کیفیت بالا برای ارزیابی غربالگری PSA انجام شد. مطالعه Grönberg و همکاران نشان داد که میزان مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات در غربالگری در بین مردان ۵۵ تا ۶۹ ساله در طی ۱۴ سال ۴۴٪ کمتر است (۱۱). Ashida و همکاران، کاهش ۲۱ درصدی مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات در غربالگری را طی ۱۳ سال پیگیری گزارش کردند (۳۴).

موضوع مهم در غربالگری PSA امکان تشخیص سرطان پروستات بدون علامت است که هرگز منجر به مرگ نمی‌شود (تشخیص بیش از حد) و سپس درمان این سرطان پروستات (درمان بیش از حد). مسائل دیگر شامل هزینه و راحتی است که دلایل احتمالی پایین بودن میزان غربالگری PSA در ژاپن است. تست PSA یک مرحله‌ای به صورت رایگان ارائه گردیده است (۳۵).

با توجه به نتایج بررسی‌های انجام شده در این تحقیق، توانستیم نوار آزمایشی برای اندازه گیری آنتی ژن اختصاصی پروستات در سرم افراد را که بر اساس تکنیک جریان جانبی با نشانگرهایی که از نانوذرات طلا ساخته شده و واکنش آن‌ها با چشم غیر مسلح قابل مشاهده است، طراحی و تولید کنیم.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل به جهت حمایت مالی از این مطالعه فناورانه، همچنین از شرکت دانش بنیان شفا زیست ارمون آمل، مستقر در مرکز رشد فناوری و نوآوری این دانشگاه، به دلیل حمایت‌های دانشی و فنی قدردانی می‌گردد.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.64]

References

1.Pérez-Ibave DC, Burciaga-Flores CH, Elizondo-Riojas MÁ. Prostate-specific antigen (PSA) as a possible biomarker in non-prostatic cancer: A review. Cancer Epidemiol. 2018;54:48-55.

2.Flocks RH, Bandhaur K, Patel C, Begley BJ. Studies on spermagglutinating antibodies in antihuman prostate sera. J Urol. 1962;87:475-8.

3.Flocks RH, Urich VC, Patel CA, Opitz JM. Studies on the antigenic properties of prostatic tissue. I. J Urol. 1960;84:134-43.

4.Hara M, Inoue T, Koyanagi Y, Goto J, Yamazaki H, Fukuyama T. Preparation and immunoelectrophoretic assessment of antisera to human seminal plasma. Nippon Hoigaku Zasshi. 1966;20:356.

5.Li TS, Behrman SJ. The sperm- and seminal plasma-specific antigens of human semen. Fertil Steril. 1970;21(7):565-73.

6.Li TS, Beling CG. Isolation and characterization of two specific antigens of human seminal plasma. Fertil Steril. 1973;24(2):134-44.

7.Ablin RJ, Soanes WA, Bronson P, Witebsky E. Precipitating antigens of the normal human prostate. J Reprod Fertil. 1970;22(3):573-4.

8.Ablin RJ, Bronson P, Soanes WA, Witebsky E. Tissue- and species-specific antigens of normal human prostatic tissue. J Immunol. 1970;104(6):1329-39.

9.Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. Eur J Cancer. 2013;49(6):1374-403.

10.Ahmed HU, El-Shater Bosaily A, Brown LC, Gabe R, Kaplan R, Parmar MK, et al. Diagnostic accuracy of multi-parametric MRI and TRUS biopsy in prostate cancer (PROMIS): a paired validating confirmatory study. Lancet. 2017;389(10071):815-22.

11.Grönberg H, Adolfsson J, Aly M, Nordström T, Wiklund P, Brandberg Y, et al. Prostate cancer screening in men aged 50-69 years (STHLM3): a prospective population-based diagnostic study. Lancet Oncol. 2015;16(16):1667-76.

12.Litwin MS, Tan HJ. The Diagnosis and Treatment of Prostate Cancer: A Review. JAMA. 2017;317(24):2532-42.

13.Hayes JH, Barry MJ. Screening for prostate cancer with the prostate-specific antigen test: a review of current evidence. JAMA. 2014;311(11):1143-9.

14.Barnett JM, Wraith P, Kiely J, Persad R, Hurley K, Hawkins P, et al. An inexpensive, fast and sensitive quantitative lateral flow magneto-immunoassay for total prostate specific antigen. Biosensors (Basel). 2014;4(3):204-20.

15.Garg S, Sachdeva A, Peeters M, McClements J. Point-of-Care Prostate Specific Antigen Testing: Examining Translational Progress toward Clinical Implementation. ACS Sens. 2023;8(10):3643-58.

16.Van Poppel H, Albreht T, Basu P, Hogenhout R, Collen S, Roobol M. Serum PSA-based early detection of prostate cancer in Europe and globally: past, present and future. Nat Rev Urol. 2022;19(9):562-72.

17.Farshchi F, Hasanzadeh M. Nanomaterial based aptasensing of prostate specific antigen (PSA): Recent progress and challenges in efficient diagnosis of prostate cancer using biomedicine. Biomed Pharmacother. 2020;132:110878.

18.Maj-Hes A, Sevcenco S, Szarvas T, Kramer G. Claros System: A Rapid Microfluidics-Based Point-of-Care System for Quantitative Prostate Specific Antigen Analysis from Finger-Stick Blood. Adv Ther. 2019;36(4):916-22.

19.Wu CC, Lin HY, Wang CP, Lu LF, Yu TH, Hung WC, et al. Evaluation of a rapid quantitative determination method of PSA concentration with gold immunochromatographic strips. BMC Urol. 2015;15:109.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.64]

20.Fernández-Sánchez C, McNeil CJ, Rawson K, Nilsson O, Leung HY, Gnanapragasam V. One-step immunostrip test for the simultaneous detection of free and total prostate specific antigen in serum. J Immunol Methods. 2005;307(1-2):1-12.
21.Koczula KM, Gallotta A. Lateral flow assays. Essays Biochem. 2016;60(1):111-20.
22.Wang W, Fan B, Zhang X, Guo R, Zhao Y, Zhou J, et al. Development of a colloidal gold immunochromatographic assay strip using monoclonal antibody for rapid detection of porcine deltacoronavirus. Front Microbiol. 2023;13:1074513.
23.Rodríguez MO, Covián LB, García AC, Blanco-López MC. Silver and gold enhancement methods for lateral flow immunoassays. Talanta. 2016;148:272-8.
24.Mustafaoglu N, Kiziltepe T, Bilgicer B. Site-specific conjugation of an antibody on a gold nanoparticle surface for one-step diagnosis of prostate specific antigen with dynamic light scattering. Nanoscale. 2017;9(25):8684-94.
25.Sajid M, Kawde AN, Daud M. Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review. J Saudi Chem Soc. 2015;19(6):689-705.
26.Dykman LA, Khlebtsov NG. Gold nanoparticles in biology and medicine: recent advances and prospects. Acta Naturae. 2011;3(2):34-55.
27.Makhsin SR, Teoh PL, Razak KA. Synthesis of Gold Nanoparticles and Its Conjugation Strategies to Biomolecules for Biomedical Applications. Rev Adv Sci Eng. 2015;4(1):3-21.
28.Wang L, Lu B, He M, Wang Y, Wang Z, Du L. Prostate Cancer Incidence and Mortality: Global Status and Temporal Trends in 89 Countries From 2000 to 2019. Front Public Health. 2022;10:811044.
29.Miano R, Mele GO, Germani S, Bove P, Sansalone S, Pugliese PF, et al. Evaluation of a new, rapid, qualitative, one-step PSA Test for prostate cancer screening: the PSA RapidScreen test. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2005;8(3):219-23.
30.Dok An C, Yoshiki T, Lee G, Okada Y. Evaluation of a rapid qualitative prostate specific antigen assay, the One Step PSA(TM) test. Cancer Lett. 2001;162(2):135-9.
31.Berg W, Linder C, Eschholz G, Link S, Schubert J. Possibility of improving the acceptance rateof early detection testing for prostate cancerwith a one-step test for prostate-specific antigen in whole blood. Urol Int. 1999;63(2):102-6.
32.Jazayeri MH, Amani H, Pourfatollah AA, Avan A, Ferns GA, Pazoki-Toroudi H. Enhanced detection sensitivity of prostate-specific antigen via PSA-conjugated gold nanoparticles based on localized surface plasmon resonance: GNP-coated anti-PSA/LSPR as a novel approach for the identification of prostate anomalies. Cancer Gene Ther. 2016;23(10):365-9.
33.Hori F, Harada Y, Kuretake T, Uno S. Impedance Analysis of Colloidal Gold Nanoparticles in Chromatography Paper for Quantitation of an Immunochromatographic Assay. Anal Sci. 2016;32(3):355-9.
34.Ashida S, Yamasaki I, Kawada C, Fukuhara H, Fukata S, Tamura K, et al. Evaluation of a rapid one-step PSA test for primary prostate cancer screening. BMC Urol. 2021;21(1):135.
35.Berg W, Linder C, Eschholz G, Schubert J. Pilot study of the practical relevance of a one-step test for prostate-specific antigen in capillary blood to improve the acceptance rate in the early detection program of prostate carcinoma. Int Urol Nephrol. 2001;32(3):381-8.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.64]