

معرفی یک نانوحسگر زیستی الکتروشیمیایی بر پایه نانوکامپوزیت پلیمری تیتانیوم کاربرد - نانولوله های کربنی جهت تشخیص زودهنگام سرطان اپیتلیالی تخمدان

سارا رجایی^۱، محبوبه نصیری^۱، علیرضا پاسدار^{۲*}، مجید رضایی^{۳،۴}، مجید خزاعی^۵

۱. گروه زیست شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران
۲. گروه ژنتیک پزشکی و پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۳. مرکز تحقیقات سم شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۴. گروه زیست فناوری و نانوفناوری پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۵. گروه فیزیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

زمینه و هدف: سرطان تخمدان سومین بدخیمی شایع زنان و کشنده ترین سرطان زنان در سراسر جهان است. تاکنون، بهبود روش های درمانی تا حدودی توانسته بر بقای بیماران تاثیرگذار باشد، اما همچنان ارایه یک روش تشخیصی زود هنگام که بتواند بیماری را در مراحل اولیه تشخیص دهد از اهمیت بیشتری برخوردار است. بنابراین، معرفی یک روش سریع، دقیق و ارزان در جهت شناسایی این بیماری می تواند بسیار مهم و ضروری باشد.

روش ها: در این مطالعه، یک ابزار سریع و دقیق برای شناسایی سرطان تخمدان به وسیله نشانگر زیستی مرتبط با سرطان تخمدان معرفی گردید. به این منظور، پس از اصلاح سطح الکتروود کار با نانوکامپوزیت، پروب اختصاصی تک رشته ای بر سطح آن تثبیت گردید. سپس هیبریداسیون توالی هدف با اندازه گیری پاسخ اکسیداسیون الکتروشیمیایی متیلن بلو مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: منحنی کالیبراسیون محدود خطی بین (۵۰ پیکومولار-۵۰۰ نانومولار)، با کمترین حد تشخیص (۰/۰۰۱۲ پیکومولار) را نشان داد. این پلت فرم سنجش DNA، با موفقیت برای تشخیص DNA هدف اضافه شده در سرم خون، نیز به کار گرفته شد و بازیابی آن در حدود بین ۹۶/۸۹ تا ۹۰/۱۰۳٪ گزارش گردید. نتیجه گیری: نانوحسگر زیستی الکتروشیمیایی طراحی شده می تواند با دارا بودن حساسیت مطلوب و کارایی مناسب در جهت شناسایی زودهنگام سرطان اپیتلیالی تخمدان به کار گرفته شود.

کلید واژه ها:

نانوحسگر زیستی
الکتروشیمیایی، سرطان
تخمدان، نشانگر زیستی

تمامی حقوق نشر برای
دانشگاه علوم پزشکی
تربت حیدریه محفوظ
است.

مقدمه

سرطان تخمدان یکی از کشنده‌ترین بدخیمی‌های شایع در زنان است که به دلیل عدم وجود روش‌های تشخیصی زودهنگام و علائم هشدار دهنده اولیه، بیماران مبتلا به سرطان تخمدان معمولاً در مراحل پیشرفته بیماری تشخیص داده می‌شوند و پیش آگاهی ضعیفی دارند، بنابراین میزان بقای ۵ ساله‌ی بیماران، تنها حدود ۳۰ درصد است (۱، ۲). سرطان تخمدان اپیتلیالی بیش از ۹۵ درصد از بدخیمی‌های تخمدان را تشکیل می‌دهد (۳). به دلیل برخی ویژگی‌های بیولوژیکی سرطان تخمدان همچون متاستاز، میزان عود بیماری بسیار بالا است و اکثر بیماران مبتلا به سرطان تخمدان اپیتلیالی مقاوم به شیمی درمانی هستند (۴).

بنابراین، توسعه یک روش تشخیصی غیرتهاجمی جهت تشخیص دقیق و زودهنگام بیماری از اهمیت زیادی برخوردار است و می‌تواند منجر به افزایش بقای بیماران شود (۵). متداول‌ترین روش‌های فعلی جهت تشخیص سرطان تخمدان شامل معاینات لگنی و سونوگرافی ترانس واژینال است که عمدتاً در افراد علامت‌دار انجام می‌شود و امکان تمایز بین توده‌های خوش‌خیم و بدخیم را نیز ندارد و اغلب تنها با بررسی بافت شناسی که روشی تهاجمی است این امکان فراهم می‌گردد (۶). بنابراین، به‌کارگیری تومور مارکرهای مناسب و موثر در جهت بررسی پاتوژنز، پیشگیری، تشخیص و درمان سرطان می‌تواند بسیار مهم و کمک‌کننده باشد (۷).

آنتی‌ژن کارسینوما‌مبریونیک (Carcinoembryonic antigen) یکی از پرکاربردترین تومور مارکرها در تشخیص‌های بالینی به‌شمار می‌رود و ارزش تشخیصی قابل توجهی در بدخیمی‌های زنان، ریه و دستگاه گوارش دارد [۸]. محصول گلیکوپروتئینی Carcinoembryonic antigen (CEA) توسط ژن CEA کد می‌شود و از ساختاری شبیه به ساختار ابرخانواده ایمونوگلوبولین‌ها تشکیل شده است و تصور می‌شود که در چسبندگی به ماتریکس خارج سلولی و سایر انواع سلول‌ها نقش دارد (۹).

مطالعات نشان می‌دهد، میزان بیان گلیکوپروتئین CEA در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ با مرحله (stage) تومور مرتبط، و میزان بالای بیان آن با متاستاز تومور به نواحی دوردست همراه است. همچنین سطوح بالای سرمی تومور مارکر CEA در حدود ۳۵ درصد از بیماران سرطان تخمدان تاکنون گزارش شده است. بعلاوه، ردیابی تغییرات میزان بیان CEA می‌تواند جهت بررسی پاسخ به شیمی درمانی و همچنین عود بیماری به‌کار گرفته شود. برخی مطالعات نیز CEA Messenger RNA (mRNA) را به‌عنوان یک نشانگر قابل اعتماد برای تشخیص سلول‌های توموری گردش خون در سرطان‌های دستگاه گوارش گزارش کرده‌اند (۹).

همچنین در حدود ۷۸ درصد از بیماران سرطان اپیتلیالی تخمدان CEA mRNA پیش از شیمی درمانی گزارش شده است (۹). تاکنون تکنیک‌های مختلفی از جمله نورترن بلات، وسترن بلات، ایمونوسیتوشیمی، فلو سیتومتری و روش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) (Polymerase chain reaction) جهت شناسایی بیومارکرهای سرطانی به‌کار گرفته شده است اما اغلب این روش‌ها زمان‌بر و پرهزینه و از لحاظ فنی و تکنیکال دشوار هستند (۱۰). بنابراین طراحی و به‌کارگیری روشی ساده‌تر، کم‌هزینه‌تر و با دقت بالاتر جهت شناسایی موثر و کارآمد بیومارکرهای سرطان بسیار اهمیت می‌یابد. اخیراً DNA حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی به‌عنوان ابزارهای نوآورانه و کارآمدی که می‌توانند با دقت، سرعت و هزینه بسیار کم در سنجش‌های بالینی به‌کار گرفته شوند، مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۰).

DNA حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی تاکنون در شناسایی زودهنگام انواع بدخیمی‌ها از جمله ریه (۱۰)، کلورکتال و پستان (۱۲). گزارش شده است. بنابراین هدف از این مطالعه طراحی DNA حسگر زیستی الکتروشیمیایی حساس و کارآمدی است که بتواند به‌طور موثر و دقیقی به شناسایی مارکر مرتبط با سرطان اپیتلیالی تخمدان بپردازد. به‌کارگیری

(PK NanoWizard)(AFM)(Atomic force microscopy) میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (Field emission scanning electron microscopy) (FE-SEM) (TESCANMIRA3-FEG) استفاده شد. هموژنیزاسیون و تجزیه نانوذرات با هموژنایزر اولتراسونیک (Sonopuls HD, 3200) و آنالیز طیف سنجی مادون قرمز (Fourier transform infrared) (FTIR) (TENSOR 27- BRUKER) انجام شد.

آماده سازی سطح الکتروود

سنتز نانوذرات مکسن بر اساس مطالعه ی ونگ و همکارانش انجام شد (۱۵) و پس از انجام آنالیزهای لازم با نسبت ۱:۱ از نانولوله های کربنی در Dimethylformamide (DMF) ترکیب گردید و به کمک دستگاه هموژنایزر اولتراسونیک ترکیب همگنی از نانوکامپوزیت مکسن- نانولوله های کربنی به دست آمد.

در هر مرحله با چکاندن ۵ میکرولیتر از نانوکامپوزیت بر سطح الکتروود و الکتروپلیمریزاسیون محلول پایرول با مولاریته ۰.۲ مولار بر سطح به کمک دستگاه گالوانو ستات-پتانسیو ستات، سطح الکتروود کار آماده می گردید.

تثبیت پروب، هیبریداسیون DNA، آنالیز الکتروشیمیایی

تثبیت توالی های تک رشته ای پروب با غوطه ور کردن الکتروود شیشه ای کربنی (GCE) به مدت یک ساعت در محلول فسفات بافر (PBS PH=7 0.05 M) حاوی پروب با غلظت ۵۰۰ نانومولار انجام شد. سپس الکتروود اصلاح شده با توالی های پروب، در غلظت های سریالی از DNA هدف همراه با غلظت ثابتی از متیلن بلو (۵۰۰ نانومولار) غوطه ور گردید و پس از شست و شورد (Phosphate buffer solution) (PBS) هر مرحله و حذف توالی های متصل نشده، جهت اندازه گیری های الکتروشیمیایی در محدوده پتانسیل ۰/۴۵- تا -۰/۱۵ ولت با پله پتانسیل (step potential) ۵ میلی ولت به کار گرفته شد.

نانومواد مانند نانوذرات طلا، نانولوله های کربنی، نانوذرات اکسید فلزی و غیره در طراحی حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی، می تواند به تثبیت مولکول های شناساگر بر سطح الکتروود و افزایش حساسیت سیگنال در حین تشخیص کمک کند. در بین انواع نانومواد، نانولوله های کربنی به دلیل قابلیت انتقال سریع الکترون، پایداری شیمیایی بالا و مساحت سطح زیاد، به عنوان یکی از مهم ترین مواد برای انتقال الکتروشیمیایی در حسگرهای زیستی شناخته شده اند (۱۲). همچنین مطالعات نشان می دهد، پایداری و خواص الکتریکی نانولوله های کربنی در صورت ترکیب با سایر مواد افزایش می یابد (۱۴). بر این اساس در این مطالعه از پلی پایرول و نانوذره مکسن جهت تهیه نانو کامپوزیتی موثر بر پایه نانولوله های کربنی استفاده گردید.

روش ها

مواد مصرفی و تجهیزات

جهت سنتز و تهیه نانوذره مکسن (MXene) پودرهای تیتانیوم کاربید، تیتانیوم و آلومینیوم، هیدروکلریک اسید و لیتیوم فلوراید از سیگما آلد ریچ (ایالات متحده آمریکا) تهیه شد. نانولوله های کربنی (MWCNTs) (multi-wall carbon nanotubes) با طول متوسط (۱-۲) میکرومتر و قطر ۱۰ نانومتر از دراپسنس (اسپانیا) و دی متیل فرمامید، پایرول، فرو سیانید پتاسیم، سدیم هیدروژن فسفات، سدیم دی هیدروژن فسفات، اتانول و متیلن بلو نیز از مرک (آلمان) تهیه شدند. تمام توالی های DNA تک رشته ای (ssDNA) (single-stranded DNA) (جدول ۱)، از شرکت پیشگام بیو تک آلمان خریداری و با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا خالص سازی شده اند.

اندازه گیری های الکتروشیمیایی به کمک دستگاه گالوانو ستات-پتانسیو ستات (Autolab PG-STAT-204) و سیستم سه الکترودی: الکتروود کار (الکتروود شیشه ای کربنی) (Glassy carbon electrode)، الکتروود پلاتین (الکتروود کمکی) و الکتروود نقره (Ag/AgCl) به عنوان الکتروود مرجع انجام شد. بعلاوه، برای مشخص کردن سطح الکتروود از میکروسکوپ نیروی اتمی

نتایج

تجزیه و تحلیل ساختاری و مورفولوژیکی

نانوذره مکسن (Ti_3C_2) با ساختاری دو بعدی و چند لایه، طی واکنش فازمکس (Ti_3AlC_2) با هیدروژن فلوراید (HF)، و به دنبال حذف آلومینیوم به دست آمد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی رودشی ذشر میدانی (FE-SEM) (شکل ۱-الف) پس از واکنش حذف آلومینیوم، نانوذرات مکسن را به صورت صفحاتی تفکیک شده از هم نشان می‌دهد که نشانگر حذف موثر عنصر آلومینیوم (Al) است. تشکیل ساختارهای صفحه‌ای مانند، از این حیث قابل اهمیت است که می‌تواند سطح وسیعی را جهت اتصال عناصر تشخیصی زیستی در نانوحسگرهای زیستی فراهم کند.

(شکل ۱-ب) از نانوکامپوزیت $Ti_3C_2/MWCNT$ ، نیز نشانگر قرارگیری نانولوله‌های کربنی بر روی صفحات مکسن است که می‌تواند با پر کردن شکاف بین لایه‌های میانی Ti_3C_2 ، یک شبکه رسانا تولید کند و از اتصال مجدد صفحات مکسن به یکدیگر جلوگیری کند (۱۶، ۱۷). پلی‌پایرول (Polypyrrole) (PPY) خالص دارای ساختار دانه‌ای-کروی است و همانطور که در (شکل ۱-ج) نشان داده شده است، پلی‌پایرول با حفظ ساختار دانه‌ای-کروی خود سطح نانوکامپوزیت $MWCNT/Ti_3C_2$ را به طور یکنواخت پوشانده است (۱۸). همچنین آنالیز پتانسیل زتا نیز جهت بررسی بار سطحی نانوذرات سنتز شده و پایداری آن‌ها انجام شد. پتانسیل زتا $21/5$ میلی ولت در $pH = 7$ برای مکسن به دست آمد که این، بار سطحی منفی از گروه‌های عاملی خاتمه‌دهنده OH ، $O=$ و F^- که در سطح ورقه‌های Ti_3C_2 وجود دارند، نشأت می‌گیرد (۱۹، ۲۰).

طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) نیز به جهت بررسی گروه‌های عاملی سطح نانوذره مکسن انجام شد. (شکل ۲)، پیک‌های نواحی $1396/41\text{ cm}^{-1}$ ، $1257/54\text{ cm}^{-1}$ ، $1643/28\text{ cm}^{-1}$ ، $3456/30\text{ cm}^{-1}$ ، $763/48\text{ cm}^{-1}$ به دست آمد که به ترتیب بیانگر باندهای OH ، $O=$ ، $C-F$ ، $C=O$ است که به خوبی با گزارشات پیشین منطبق است (۲۱).

آنالیز الکتروشیمیایی سطح الکتروود در مراحل مختلف اصلاح

تکنیک ولتامتری چرخه‌ای (CV) در جهت توصیف الکتروشیمیایی الکتروود اصلاح شده ($Ti_3C_2-MWCNTs$) (PPY/GCE) و مطالعه قابلیت کاتالیزوری آن در مراحل مختلف اصلاح الکتروود، به کار گرفته شد. (شکل ۳)، پروفایل‌های ولتامگرام‌های چرخه‌ای در محلول فروسیانید-پتاسیم ۵ میلی‌مولار $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ حاوی KCl ۰٫۱ مولار با سرعت اسکن 50 mV/s (میلی ولت/ثانیه) برای سه مرحله اصلی در تهیه حسگر زیستی را نشان می‌دهد. (شکل ۳-منحنی ب) نشان می‌دهد که سیگنال‌های $Ti_3C_2-MWCNTs-PPY/GCE$ بهتر و قوی تر از الکتروود اصلاح نشده (منحنی الف) است و به نظر می‌رسد که رسانایی نانوکامپوزیت $Ti_3C_2/MWCNTs/PPY$ به دلیل ترکیبی از رسانایی فلزی Ti_3C_2 و رسانایی الکترونیکی MWCNT، بسیار افزایش یافته است و همچنین فعالیت کاتالیزوری مطلوبی را از خود نشان می‌دهد. به علاوه پلی‌پایرول نیز با افزایش سطح و تسریع انتقال الکترون به افزایش رسانایی الکتروود اصلاح شده کمک می‌نماید.

در مرحله‌ی بعد، به دنبال آنکوباسیون الکتروود اصلاح شده در محلول پروب ssDNA به دلیل ایجاد دافعه الکترواستاتیکی بین DNA، با بار منفی $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ انتقال الکترون و جریان ناشی از آن کاهش یافت (منحنی ج) و پس از هیبریداسیون با DNA مکمل (منحنی د)، گونه‌های ردوکس و بار منفی تقویت گردید و جریان به طرز چشمگیری کاهش یافت (۲۲ و ۲۳).

بهینه سازی شرایط آزمایش

به جهت بهبود سیستم سنجش ولتامتری، برخی از پارامترهای مهم در طراحی نانوحسگر زیستی از جمله غلظت ssDNA پروب و مدت زمان تثبیت آن، مدت زمان هیبریداسیون و pH بافر هیبریداسیون مورد بررسی قرار گرفتند. برای دستیابی به بهترین غلظت تثبیت پروب، جریان غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ نانومولار از ssDNA پروب را به کمک تکنیک (Differential pulse voltammetry) (DPV) بررسی نمودیم. غلظت ۵۰۰ نانومولار بالاترین سیگنال جریان را نشان داد و به عنوان غلظت بهینه پروب در نظر گرفته شد. غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ نانومولار،

محدوده دینامیکی و حد تشخیص نانوحسگر زیستی

حساسیت نانوحسگر زیستی طراحی شده، با تغییرات غلظت DNA هدف با روش ولتامتری پالس تفاضلی (DPV) مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در (شکل ۴)، مشاهده می‌شود جریان پیک DPV دارای ارتباط خطی با لگاریتم تغییرات غلظت DNA هدف در محدوده ۵۰ پیکومولار تا ۵۰۰ نانومولار است. دلیل این پاسخ الکتروشیمیایی، تشکیل ساختار (double stranded DNA) dsDNA روی سطح الکتروود و افزایش تجمع متیلن بلو روی سطح الکتروود است. حد تشخیص این DNA حسگر زیستی برابر با ۰/۰۰۱۲ پیکومولار محاسبه گردید (۲۳).

کاربرد نانوحسگر زیستی در محیط های بیولوژیکی

به منظور تایید کاربرد نانوحسگر زیستی طراحی شده در تشخیص نشانگر زیستی DNA هدف در محیط سرم، غلظت های معینی از توالی DNA هدف سنتز شده، در محدوده کالیبراسیون و تشخیصی نانوحسگر زیستی به یک نمونه سرم خون اضافه گردید و با استفاده از بافر (0.05 M, pH 7) PBS محدوددهی pH نمونه ها تنظیم گردید. با توجه به نتایج جدول (۲) بازیابی رضایت بخشی از ssDNA هدف بین ۹۶/۸۹ تا ۹۰/۱۰۳ درصد از طریق استفاده از DNA حسگر زیستی پیشنهادی به دست آمد.

به دلیل مقادیر کم پروب تثبیت شده بر روی سطح الکتروود، و غلظت های بیشتر از ۵۰۰ نانومولار به دلیل تجمع گسترده و همپوشانی پروب ها، سیگنال کمتری را نشان می دهند (۲۴). مناسب ترین مدت زمان تثبیت پروب بر روی سطح الکتروود نیز، یک ساعت در نظر گرفته شد و در مدت زمان های بیشتر از یک ساعت سیگنال ها ابتدا ثابت و سپس کاهش یافت که احتمالاً ناشی از پوشش کامل محل های فعال سطح الکتروود است (۲۵). همچنین، برای انجام هیبریداسیون بین توالی های DNA مکمل و ssDNA پروب، سیگنال های جریان در بازه های زمانی ۳۰ تا ۱۲۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت.

با افزایش زمان از ۳۰ دقیقه تا ۹۰ دقیقه سیگنال ها به صورت افزایشی بوده و پس از آن ثابت گردید، که نشانگر تکمیل شدن فرایند هیبریداسیون است. بنابراین ۹۰ دقیقه به عنوان بهینه ترین مدت زمان هیبریداسیون لحاظ گردید. pH بافر هیبریداسیون به عنوان یکی دیگر از پارامترهای مهم در پاسخ DNA حسگر زیستی است، pH نامناسب نه تنها سبب آسیب به DNA می شود، بلکه می تواند بر میل ترکیبی بین DNA و سطح الکتروود و نتیجتاً میزان هیبریداسیون تاثیر بگذارد. از این رو، یک سری بافر PBS با مقادیر pH از ۶/۵ تا ۸ تهیه و مورد آزمایش قرار گرفتند، که pH برابر با ۷ با نشان دادن بالاترین میزان سیگنال به عنوان pH بهینه در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت (۲۶).

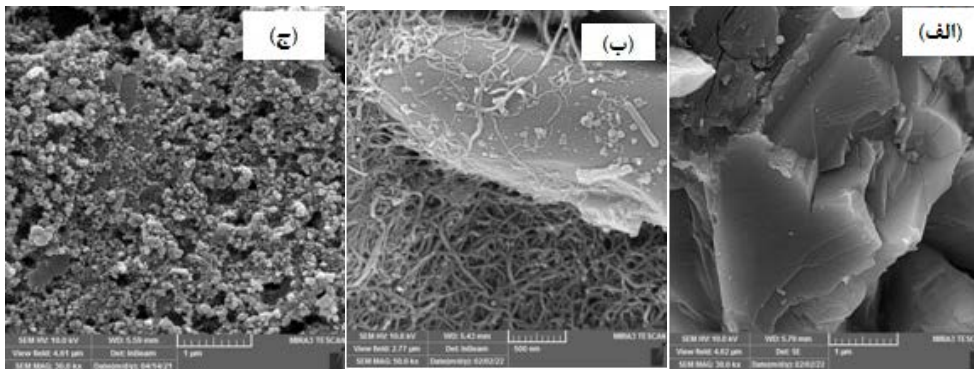
جدول ۱- مشخصات توالی های مورد مطالعه

نام ژن	شناسه ژن	توالی	طول
CEACAM5 (CEA)	NM_001291484	پروپ	۳۱
		5'CCGCAATAATTCCATAGTCAAGAGCATCACA 3'	
		مکمل	۳۱
		5'TGTGATGCTCTTGACTATGGAATTATTGCGG 3'	

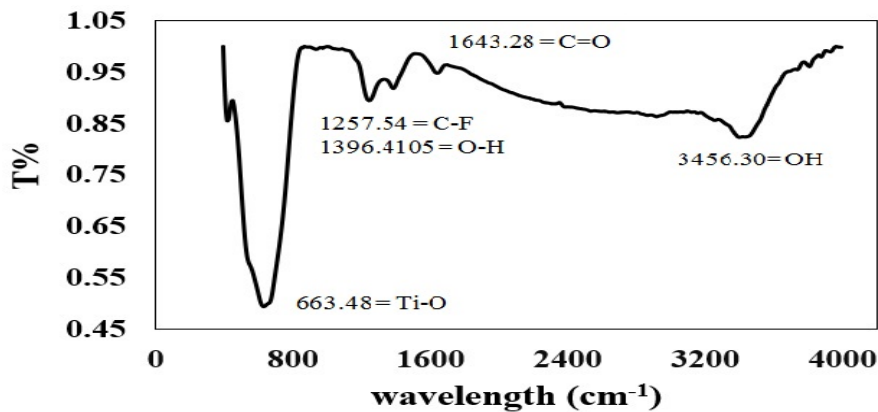
جدول ۲- میزان بازیابی توالی هدف در محیط سرم (غلظت‌های معینی از توالی هدف به سرم خون اضافه شده و درصد بازیابی آن توسط نانوحسگر زیستی، تعیین گردیده است)

غلظت اضافه شده Spiked C(nM)	غلظت بازیابی شده Found C(nM)	درصد بازیابی Recovery%	RSD%*
۰/۰۵	۰/۰۵۵۵۷	۸۹/۹۶	۱/۱۰۷
۰/۰۱	۰/۰۹۸۷۴	۱۰۱/۲	۱/۰۲۶
۰/۰۷۵	۰/۸۲۶۷	۹۰/۷۱	۱/۲۹۷
۱	۱/۰۹	۹۱/۶۸	۱/۲۵۳
۴۰۰	۳۸۴/۹۶۵	۱۰۳/۹۰۵	۱/۹۹۰۶۵

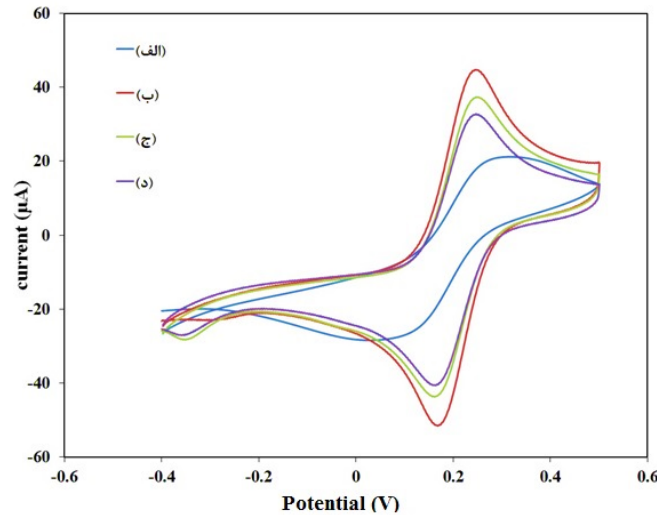
*انحراف استاندارد نسبی (Relative standard deviation)



شکل ۱- تصاویر FESEM (الف) Ti_3C_2 ، (ب) $Ti_3C_2/MWCNT$ ، (ج) $Ti_3C_2-MWCNTs/PPY$

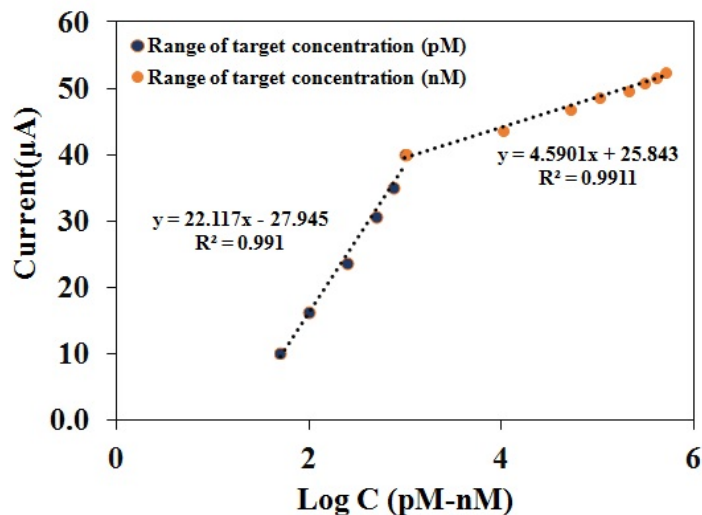


شکل ۲- طیف سنجی مادون قرمز نانوذره مکسن سنتز شده (MXene FTIR)



شکل ۳- آنالیز الکتروشیمیایی سطح الکتروود در مراحل مختلف اصلاح

(الف) GCE (ب) Ti_3C_2 -MWCNTs-PPY/GCE (ج) Ti_3C_2 -MWCNTs-PPY-Probe/GCE (د) Ti_3C_2 -MWCNTs-PPY-Probe-Target/GCE



شکل ۴- نمودار کالیبراسیون شدت جریان اکسیداسیون متیلن بلو برحسب لگاریتم غلظت‌های مختلف DNA هدف (محدوده ۵۰ پیکومولار تا ۵۰۰ نانومولار در بافر (PBS 0.05 M, pH 7))

بحث و نتیجه‌گیری

دیگر، پوشیده شدن موثر سطح الکتروود توسط پلیمر رسانای پایروول نه تنها سبب افزایش رسانایی می‌شود بلکه به اتصالات پروب به سطح الکتروود اصلاح شده، کمک می‌نماید. بنابراین در شرایط بهینه، این حسگر زیستی الکتروشیمیایی قادر است با دارا بودن محدوده شناسایی گسترده (۵۰ پیکومولار - ۵۰۰ نانومولار) ، حد تشخیص کم (۰/۰۰۱۲ پیکومولار) و همچنین دقت و

در این مطالعه، حسگر الکتروشیمیایی فوق العاده حساس، و ساده مبتنی بر نانوکامپوزیت Ti_3C_2 -MWCNTs/PPY در جهت شناسایی موثر و سریع DNA مارکر مرتبط با سرطان اپیتلیالی تخمدان، طراحی و معرفی گردید. به کار بردن ترکیب نانوذرات مکسن و نانولوله‌های کربنی سبب افزایش رسانایی و سطح الکتروود شده و انتقال الکترون را تسهیل می‌نماید. از طرفی

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان:

- (۱) مفهوم پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع آوری داده ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده ها : سارا رجایی، محبوبه نصیری، علیرضا پاسدار، مجید رضایی، مجید خزاعی
- (۲) تهیه پیش نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: سارا رجایی، محبوبه نصیری، علیرضا پاسدار، مجید رضایی، مجید خزاعی
- (۳) تایید نهایی دستنوشته پیش از ارسال به مجله: سارا رجایی، محبوبه نصیری، علیرضا پاسدار، مجید رضایی، مجید خزاعی

حساسیت مطلوب، در کمترین زمان به شناسایی DNA هدف بپردازد. این حسگر زیستی می‌تواند به‌عنوان یک ابزار غربالگری موثر و کارآمد در جهت شناسایی زودهنگام سرطان با هزینه‌ی بسیار کم معرفی گردد و به‌زودی جایگزین روش‌های متداول غربالگری سرطان شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه دکتری تحت عنوان ردیابی مولکولی سلول‌های سرطانی در گردش خون (CTCs) بیماران مبتلا به سرطان تخمدان اپیتلیالی به کمک نانوحسگر زیستی الکترو شیمیایی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی ارسنجان با کد اخلاق IR.IAU.TJ.REC.1399.036 است که به حمایت دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام گردیده است.

References

1. Li, C.-J., et al., Identification of Novel Biomarkers and Candidate Drug in Ovarian Cancer. *Journal of Personalized Medicine*, 2021. 11(4): 316.
2. Yang, Y., et al., Tumor microenvironment in ovarian cancer: function and therapeutic strategy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020. 8: 758.
3. Lheureux, S., M. Braunstein, and A.M. Oza, Epithelial ovarian cancer: evolution of management in the era of precision medicine. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2019. 69(4): 280-304.
4. Liu, J., et al., Identification of a prognostic signature of epithelial ovarian cancer based on tumor immune microenvironment exploration. *Genomics*, 2020. 112(6): 4827-4841.
5. Shiao, M.-S., et al., Circulating Exosomal miRNAs as Biomarkers in Epithelial Ovarian Cancer. *Biomedicines*, 2021. 9(10): 1433.
6. Montagnana, M., M. Benati, and E. Danese, Circulating biomarkers in epithelial ovarian cancer diagnosis: from present to future perspective. *Annals of translational medicine*, 2017. 5(13).
7. Zheng, M.J., et al., Identification of molecular marker associated with ovarian cancer prognosis using bioinformatics analysis and experiments. *Journal of cellular physiology*, 2019. 234(7): 11023-11036.
8. Guo, J., et al., Serum CA125, CA199 and CEA combined detection for epithelial ovarian cancer diagnosis: A meta-analysis. *Open medicine*, 2017. 12(1): 131-137.
9. Yousefi, M., et al., Clinical significance of circulating tumor cell related markers in patients with epithelial ovarian cancer before and after adjuvant chemotherapy. *Scientific reports*, 2021. 11(1): 1-10.
10. Chen, M., et al., Three-dimensional electrochemical DNA biosensor based on 3D graphene-Ag nanoparticles for sensitive detection of CYFRA21-1 in non-small cell lung cancer. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018. 255: 2910-2918.
11. Añorga, L., et al., Development of a DNA microelectrochemical biosensor for CEACAM5 detection. *IEEE Sensors Journal*, 2010. 10(8): 1368-1374.
12. Senel, M., M. Dervisevic, and F. Kokkokoğlu, Electrochemical DNA biosensors for label-free breast cancer gene marker detection. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2019. 411(13): 2925-2935.
13. Zhou, Y., Y. Fang, and R.P. Ramasamy, Non-covalent functionalization of carbon nanotubes for electrochemical biosensor development. *Sensors*, 2019. 19(2): 392.
14. Park, Y., et al., Highly Sensitive Electrochemical Aptasensor for Detecting the VEGF165 Tumor Marker with PANI/CNT Nanocomposites. *Biosensors*, 2021. 11(4): 114.
15. Wang, F., et al., TiO₂ nanoparticle modified organ-like Ti₃C₂ MXene nanocomposite encapsulating hemoglobin for a mediator-free biosensor with excellent performances. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015. 74: 1022-1028.
16. Kalambate, P.K., et al., An electrochemical sensor for ifosfamide, acetaminophen, domperidone, and sumatriptan based on self-assembled MXene/MWCNT/chitosan nanocomposite thin film. *Microchimica Acta*, 2020. 187(7): 1-12.

17. Sangu, S.S., et al., MXene-based aptasensor: characterization and high-performance voltammetry detection of deoxynivalenol. *BioNanoScience*, 2021. 11(2): 314-323.
18. Bachhav, S.G. and D.R. Patil, Study of polypyrrole-coated MWCNT nanocomposites for ammonia sensing at room temperature. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*, 2015. 3(10): 30.
19. Ren, C.E., et al., Charge-and size-selective ion sieving through $Ti_3C_2T_x$ MXene membranes. *The journal of physical chemistry letters*, 2015. 6(20): 4026-4031.
20. Ying, Y., et al., Two-dimensional titanium carbide for efficiently reductive removal of highly toxic chromium (VI) from water. *ACS applied materials & interfaces*, 2015. 7(3): 1795-1803.
21. Chen, J., et al., Integrating MXene nanosheets with cobalt-tipped carbon nanotubes for an efficient oxygen reduction reaction. *Journal of Materials Chemistry A*, 2019. 7(3): 1281-1286.
22. Huang, R., et al., Self-assembled Ti_3C_2 /MWCNTs nanocomposites modified glassy carbon electrode for electrochemical simultaneous detection of hydroquinone and catechol. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2019. 184: 109619.
23. Rizi, K.S., et al., Response surface methodology optimized electrochemical DNA biosensor based on HAPNPTs/PPY/MWCNTs nanocomposite for detecting *Mycobacterium tuberculosis*. *Talanta*, 2021. 226: 122099.
24. Fani, M., et al., A novel electrochemical DNA biosensor based on a gold nanoparticles-reduced graphene oxide-polypyrrole nanocomposite to detect human T-lymphotropic virus-1. *IEEE Sensors Journal*, 2020. 20(18): 10625-10632.
25. Shekari, Z., H.R. Zare, and A. Falahati, Developing an impedimetric aptasensor for selective label-free detection of CEA as a cancer biomarker based on gold nanoparticles loaded in functionalized mesoporous silica films. *Journal of The Electrochemical Society*, 2017. 164(13): B739.
26. Zhao, F., et al., New electrochemical DNA sensor based on nanoflowers of $Cu_3(PO_4)_2$ -BSA-GO for hepatitis B virus DNA detection. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2020. 867:114184.

Using an electrochemical nanobiosensor based on titanium carbide-carbon nanotubes polymeric nanocomposite for the epithelial ovarian cancer early detection

Sara Rajaie¹, Mahboobeh Nasiri¹, Alireza Pasdar^{2*}, Majid Rezayi^{3,4}, Majid Khazaei⁵

1. Department of Biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran
2. Department of Medical Genetics and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
3. Medical Toxicology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
4. Department of Medical Biotechnology and Nanotechnology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
5. Department of Medical Physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Corresponding author: Department of Medical Genetics and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Email: pasdara@ mums.ac.ir

Abstract

Background & Aim: Ovarian cancer is the most lethal among female malignancies. So far, treatment improvements have affected patient survival, but it is still more important to provide an early diagnosis that can detect the disease in its early stages. Therefore, introducing a rapid, accurate, and low-cost method to disease detection can be important and necessary.

Methods: This study introduced a rapid and accurate tool for ovarian cancer detection by its specific biomarker. For this purpose, after modifying the working electrode surface with nanocomposite, the specific single-stranded DNA probe was immobilized on its surface. Then the target sequence hybridization was investigated by measuring the electrochemical oxidation response of methylene blue.

Results: Under optimal conditions, The DNA biosensor showed a linear range from 50pM to 500 nM with a low detection limit of 0.0012 pM. The DNA assay platform was also successfully used to detect target DNA added to blood serum, and its recovery was reported to be between 89.96 and 103.90%.

Conclusion: The designed electrochemical nanobiosensor can be used for the early detection of epithelial ovarian cancer with desirable sensitivity and efficiency.

Keywords:

Electrochemical nanobiosensor, Ovarian cancer, Biomarker

How to Cite this Article: Rajaie S, Nasiri M, Pasdar A, Rezayi M, Khazaei M. Using an electrochemical nanobiosensor for the purpose of epithelial ovarian cancer early detection. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2022;9(4):61 -71.

* آدرس نویسنده مسئول: گروه ژنتیک پزشکی و پزشکی مولکولی، دانشکده
پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
آدرس پست الکترونیک: pasdara@mums.ac.ir