sina-pub.ir

شناسایی نشانگر های زیستی قلبی بدون برچسب با استفاده از سنسور های SIS نوری

انفارکتوس های شدید میوکاردی(MI) یکی از مهم ترین علت های مرگ و میر و تلفات در سراسر جهان میباشد و تشخیص سریع و به موقع آن میتواند امکان زنده ماندن را افزایش دهد. در این کار، ما یک روش ساده، حساس و بدون برچسب و راه حل های سنسور های سیلیکن غوطه ور در محلول (SIS) مبتنی بر شرایط بدون انعکاس(NRC) برای موج های پلاریزه ی P برای تشخیص زود هنگام MI، استفاده کرده ایم. سنسور های SIS لایه های پلیمری دی الکتریک نازک بر روی سطح سیلیکنی هستند که میتوان آن ها را برای کاربرد های مختلف مورد استفاده قرار داد. در NRC، سنسور های SIS به شدت حساس به افزایش ضخامت لایه های زیستی بر سطح سنسور هستند در حالی که نسبت تغییر شاخص انکسار محیط واسط مستقل میباشد. ازین رو، سیگنال های SIS از نظر از نویز های گرمایی مستقل بوده میباشد که این موضوع بر خلاف سنسور های مبتنی بر رزونانس پلاسما میباشد. همچنین ، هیچ نیازی به سیگنال مرجع که اندازه گیری ها را ساده کند وجود ندارد. در اینجا، تکنولوژی SIS برای بررسی دو موضوع در تشخیص MI مورد استفاده قرار گرفته است : حساسیت بالا با ارزیابی مستقیم و توانایی اندازه گیری در سروم انسان. پروتئین های میوگلوبین، کیناز کراتین MB، و تروپونین قلبی (9cTnI به عنوان نشانه های زیستی قلبی مورد استفاده قرار گرفته است. ما میتوانیم گستره ی غلظت های مختلفی را بر اساس محدوده های اندازه گیری های 5 و 10pg/ml برای cTnI در PBS و سروم خونی، به ترتیب اندازه گیری کنیم. پاسخ زمانی حدود 5 دقیقه میباشد. این روش جدید یکی از کاندید های مناسب برای کاربرد های مقرون به صرفه میباشد.

کلید واژه ها: سنسورهای SIS -انفارکتوس حاد قلب- تروپونین I- میوگلوبین- CK-MB -الیسپومتری -بیوسنسور

1. مقدمه

sina-pub.ir

انفارکتوس های شدید قلبی (MI)، که معمولا به آن حمله ی قلبی گفته میشود، یکی از آسیب های بدون بازگشت به سلول های قلبی است که در اثر تامین خون ناکافی به دلیل بلوکه شدن شریان های کرونری ایجاد میشود. در سال 2012، حمله های قلبی عروقی جان نزدیک به 17.5 میلیون نفر را گرفت که 31 ٪ از کل مرگ جهان را شامل میشود که در میان این افراد 7.4 میلیون نفر از آن ها به دلیل مشکلات کرونری به مرگ مبتلا شده بودند. تشخیص MI بیشتر مبتنی بر نشانه های درد شدید سینه و یا هر ناراحتی کهولت سن میباشد. اما، نزدیک به 28 ٪ از مردان و 35 ٪ از زنان هیچ کدام از این نشانه ها را نشان نمیدهند که به آن ها MI ساکت گفته میشود که این افراد در خطر بالایی هستند. رایج ترین تست ها برای بررسی شرایط این افراد استفاده از ECG و یا MRI است. این روش ها هر کدام فواید و مضرات خودشان را دارند.

بعضی از پروتئین های خاص هستند که زمانی که ماهیچه های خونی دچار مشکل میشوند، در جریان خون بیشتر مشاهده میشود. شناسایی و کمی سازی مقدار زمانی این پروتئین ها میتواند یکی از ابزار غیر تهاجمی برای شناسایی مشکلات MI شود. در میان این پروتئین ها، تروپونین انقباض ماهیچه ها را کنترل میکند که از سه زیر واحد پروتئینی ساخته شده است ؛ تروپونین I که مانع اتصال میوزین ها با اکتین میشود، تروپونین T که با تروپومیوزین فعالیت میکند و تروپونین C که با Ca^{2+} اتصال پیدا میکند. تروپونین های I و T قلبی نسبت به MI حساسیت و قابلیت تشخیصی بالایی دارند و در جریان خون به مدت طولانی باقی میمانند. ازین رو، این نشانگر های زیستی را میتوان به عنوان استاندارد های اصلی در تشخیص MI در نظر گرفت. cTnI و cTnT میتوانند اطلاعات مشابه در مورد نکروز های میوکاردی فراهم کند. اما، cTnI ها برتری کوچک اما مهمی را نسبت به توانایی تشخیص cTnT در مراحل اولیه ی MI دارند. ما از cTnI ها در کنار ایزوفرم های کراتینی کیناز MB و پروتئین های میوگلوبین به عنوان نشانگر های MI در این کار استفاده میکنیم.

سنسور های زیستی بر اساس تکنیک های رسانش نوری و الکتریکی ساخته میشنود. سنسور های الکتروشیمیایی میتوانند گونه های سیگنال های زیستی را از نظر تغییر رسانش، ظرفیت، و امپدانس شناسایی کنند. ساخت فرآیند های تولید سنسور و دستگاه های بسیار حساس ، پیچیده میباشد که تنظیمات بسیار گرانی را به دنبال دارد.

sina-pub.ir

به طور کلی روش های استفاده شده برای ایجاد تقویت سیگنال و یا حذف کردن سیگنال های گرمایی بسیار پیچیده و گران میباشد. نیاز به روش های ساده تر و مقرون به صرفه تر با توانایی تشخیص مناسب، به شدت مورد نیاز است. در این جا، ما یک سنسور مبتنی بر ارزیابی مستقیم hs-cTnI با استفاده از SIS را ایجاد کرده ایم. پلت فرم سنجش مورد استفاده مبتنی بر شرایط غیر انعکاسی (NRC) برای موج های پلاریزه ی P میباشد که زاویه های الیپسومتری (Ψ, Δ) به شدت حساس به ضخامت لایه ها هستند. سادگی مهم ترین ویژگی تکنولوژی SIS میباشد. چیپ های سنسور های SiS یک لایه ی پوشش یافته ی چرخشی با لایه های پلیمری بر روی یک بستر سیلیکن میباشد که میتوان آن را برای شناسایی انواع مختلفی از مولکول های زیستی مانند پپتید ها/ف پروتئین ها، و DNA استفاده کرد.

2. مواد و روش ها

2.1 مواد شیمیایی

ویفر های سیلیکنی با گرایش های $\langle 100 \rangle$ تهیه شده است. همچنین هیدروفلوریک اسید، اریفلورواستیک، و دی کلرو متان ، هیدروکسید آمونیوم و اتانول آمین، NHS، دکستران کربوکسی متیل ، نمک سدیم و نمونه های خون انسان نیز تهیه شده است. همچنین سروم های خونی انسانی و حیوانی و مواد شناساگر دیگر نیز خریداری شده است .

2.2 ساخت چیپ سنسور های SIS

چیپ این سنسور های از ویفر های Si، ساخته شده است که با استفاده از لایه های Tboc پوشیده شده است. ما سیلیکن را به عنوان ماده ی اصلی انتخاب کرده ایم زیرا از نظر پایداری و همگن بودن بهترین ویژگی ها را در میان مواد مورد استفاده برای سنسور های زیستی دارد. سپس با استفاده از روند های مختلف رسوب دهی ، لایه های Tboc را روی ان رسوب میدهیم. بدین صورت حالت خام این چیپ ها ساخته میشود که این لایه ها میتوانند به مدت دو سال پایداری خودشان را حفظ کنند.

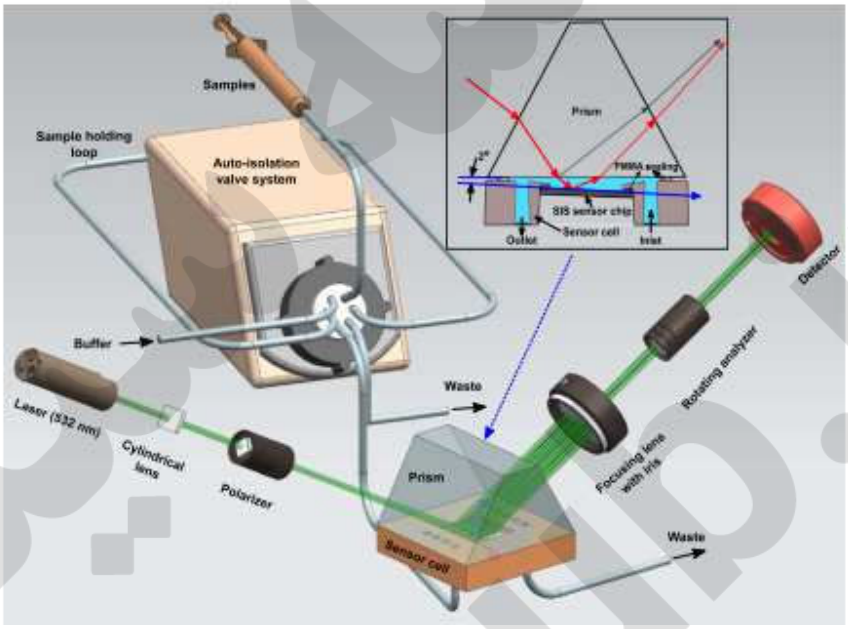
2.3 استفاده از سنسور های SIS

این سنسور ها با حذف کردن گروه های کاربامات از زنجیره های Tboc فعال میشود که گروه های آمینی را در معرض سطح سنسور قرار میدهد. این سنسور های فعال را میتوان به صورت مستقیم به عنوان سنسور های زیستی مورد

sina-pub.ir

استفاده قرار داد. البته خروجی این سنسور های کند است زیرا بیشترین سایت های اتصال برای اتصال آنتی ژن ها به دلیل گرایش های رندوم زنجیره های پلیمری غیر ممکن میباشد.

از ارزیابی های مستقیم با استفاده ارزیابی های مستقیم با استفاده از این سنسور ها میتوان نشانگر های زیستی ذکر شده را که در PBS خالص رقیق شده اند با غلظت های مختلف شناسایی کرد. یک محلول یک میلی لیتری از هر کدام از این آنتی ژن ها بر روی سنسور ها ریخته میشود و رخداد های اتصال مولکول ها شناسایی و اندازه گیری میشود.



شکل1

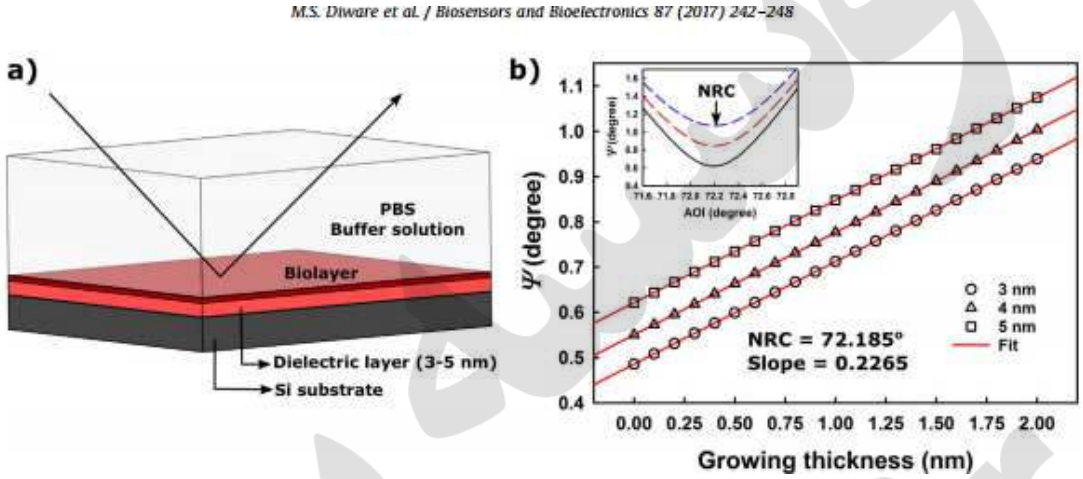
2.4 سیستم سنسور SIS

این سیستم به گونه ای است که میتوان آن را به راحتی استفاده کرد. این سیستم شامل سیستم انتقال مایع و آرایش سنسور ها میباشد. سیستم انتقال نیز شامل دو شیر ایزوله برای انتقال مایع میباشد که مایع را به منطقه ی سنجش برده و از آن جا خارج میکند. سلول سنسور نیز به گونه ای است که بتواند از کانال های خروجی سنسور پشتیبانی کرده و همچنین از آن نسبت به نویز های محیطی محافظت کند.

یک الیپسومتر تحلیلی دوار نیز به عنوان مبدل نوری استفاده شده است تا زوایای الیپسومتری را اندازه گیری کند. منبع نوری نیز یک دیود لیزری با طول موج 532 نانومتر و توان میانگین 25 mW میباشد. لنز های سیلندری نیز

sina-pub.ir

برای تبدیل نقطه ی نوری به خط نوری استفاده شده است تا بتوان محیط مناسب آزمایش را به دست آورد. شناساگر مورد استفاده نیز یک دیود سیلیکنی میباشد که میتواند NRC را با دقت 0.001 تنظیم کند.



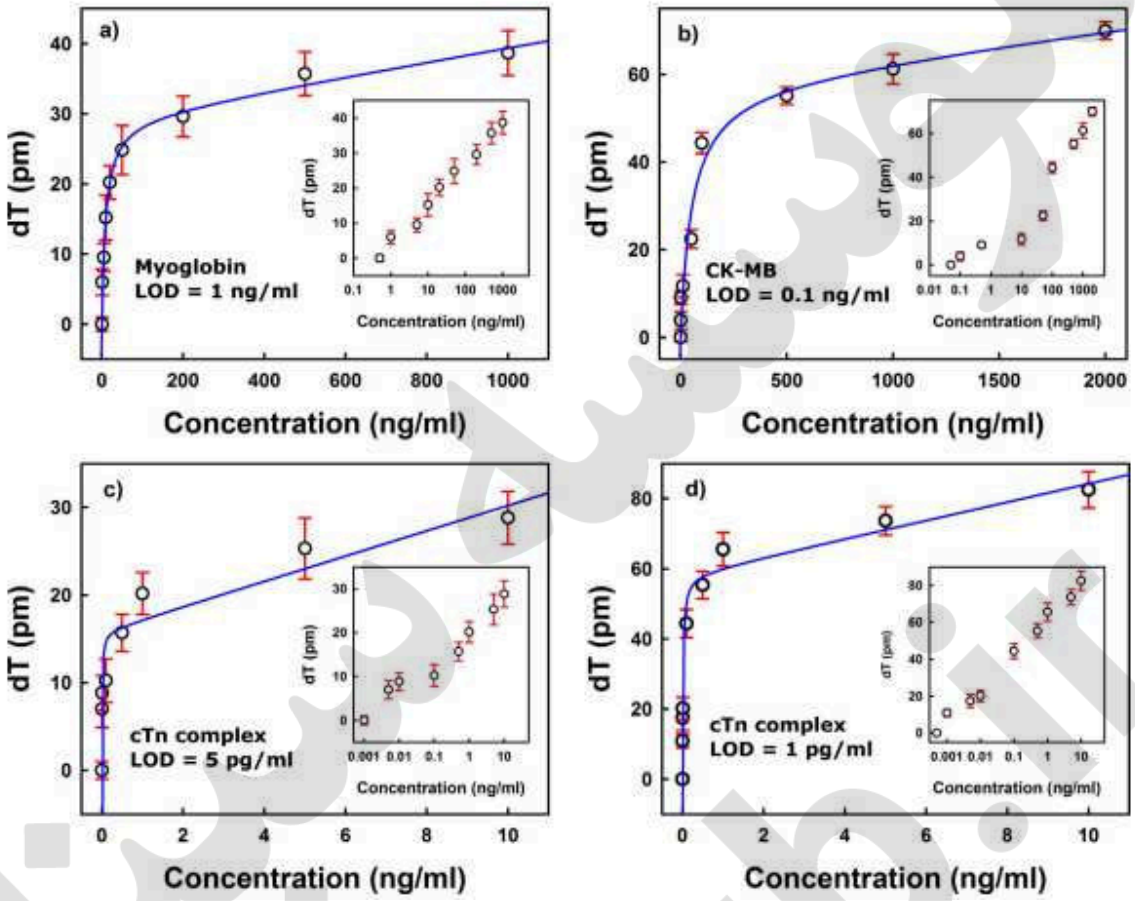
شکل 2

3.1 اصول SIS

الیپسومتری رایج ترین تکنیک سنجش نوری سطوح میباشد. اندازه گیری ها بر اساس وضعیت قطبی نور برخورد کننده نسبت به تعامل با سطح نمونه تغییر میکند. این روش دو پارامتر را اندازه گیری میکند که همزمان این پارامتر ها Ψ و Δ میباشد که میتوانند اطلاعاتی را در مورد سیستم مورد مطالعه به ما بدهند. این پارامتر ها نسبت دامنه و تفاوت فاز بین نور های p و نور قطبی s میباشد که با نسبت پیچیده ی انعکاس ρ به صورت زیر تعریف میشود

$$\rho = r_p/r_s = \tan(\Psi)\exp(i\Delta), \qquad (1)$$

sina-pub.ir



شکل5

نتیجه گیری

به صورت جمع بندی، یک سنسور سریع و ارزان نوری به صورت موثر و کار آمد برای تشخیص MI توسعه یافته و ساخته شد. چیپ های سنسور های SIS از یک لایه ی نازک دی الکتریک پلیمری ساخته شده است که بر روی یک ویفر Si پوشش داد شده است و با استفاده از انتی بادی ها فعال شده و در یک مایع حاوی اهداف مربوطه قرار داده شده است. سنسور SIS در شرایط NRC کار میکند و تغییرات در سیگنال های Ψ و Δ را شناسایی میکند که این سیگنال ها حساسیت بالایی نسبت به تغییر ضخامت تعامل های آنتی بادی ها و آنتی ژن ها و تغییرات RI محلول بافر دارند. ما میتوانیم LOD به مقدار 1ng/ml را برایT میوگلوبین، 0.1 ng/ml را برای CK-MB و 0.005 ng/ml را برای cTnI در PBS و 0.01 ng/ml را برای cTni در سروم خونی انسان بدون استفاده از هدف گیری

sina-pub.ir

و یا برچسب گذاری به دست بیاوریم. سنسور های SIS یک وابستگی خطی و یا غلظت تحلیل بین 0.1-100 ng/ml برای میوگلوبین و CK-MB، 0.005-1 ng/ml برای cTnI در PBS و 0.01-10 ng/ml برای cTnL در سروم خون انسان، دارد. چیپ های این سنسور ها مقاوم هستند و میتوان سطح آن ها را برای استفاده ی مجدد، بازیابی کرد که همین موضوع میتوان موجب کاهش هزینه های ساخت و تولید شود. حساسیت بالا و پاسخ زمانی کوتاه در این سنسور ها برای شناسایی cTnI در سروم خون واقعی انسان برای تشخیص MI مورد نیاز است که همین موضوع نشان میدهد که میتوان از سنسور های SIS برای شناسایی مشکلات MI به خوبی استفاده کرد.

مرجع سینا sina-pub.ir