

Aptameeripohjaiset PSA-sensorit

TkK-tutkielma
Turun yliopisto
Bioteknologian laitos
Biotekniikka
Huhtikuu 2024
Susanna Helin

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

TURUN YLIOPISTO
Bioteknologian laitos
SUSANNA HELIN: Aptameeripohjaiset PSA-sensorit
TkK-tutkielma, 20 s.
Biotekniikka
Huhtikuu 2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Eturauhassyöpä, joka on yksi yleisimmistä etenkin ikääntyvillä miehillä esiintyvistä syövästä, on mahdollista havaita biomarkerina toimivan prostataspesifisen antigeenin eli PSA:n avulla. Herkät PSA-pitoisuuden määrytykset mahdollistavat syövän havaitsemisen ajoissa, mikä parantaa syöpähoitojen vastetta ja laskee menehtymisriskiä. PSA-aptasensorit voisivat toimia yksinkertaisena ratkaisuna PSA:n mittaamiseen seeruminäytteistä.

PSA-aptasensorit koostuvat PSA:ta tunnistavasta aptameeristä eli lyhyestä synteettisestä DNA- tai RNA-molekyylisestä, muuntajasta ja signaalintuottajasta. Signaalintuottotavan perusteella PSA-aptasensorit voidaan jakaa elektrokemiallisiin ja optisiin sensoreihin, joissa käytetään erilaisia nanomateriaaleja mahdollistamaan ja tehostamaan sensorin toimintaa. Aptasensorien etuina ovat yksinkertaisuus, nopeus, herkkyys ja selektiivisyys. Aptameerien hyödyntäminen vasta-aineiden sijaan vähentää eläinten immunisoimisen tarvetta ja takaa tasalaatuisemmat tuote-erät.

Elektrokemialliset PSA-aptasensorit sisältävät impedanssiin, voltammetriaan ja valosähkökemialliseen ilmiöön perustuvat sensorityypit, joiden rakenteelle ominaista ovat hapetus-pelkistysreaktioiden tapahtumapaikkana toimivat elektrodit. Kaikkien elektrokemiallisten sensorien toiminta perustuu elektronien liikkeen aiheuttamaan sähköiseen signaaliin, joka on esimerkiksi mitattava sähkövirta tai potentiaali ja jonka suuruus riippuu näytteen PSA-pitoisuudesta.

Optiset PSA-aptasensorit sisältävät kemiluminesenssiin, elektrokemiluminesenssiin, fluoresenssiin, pintaplasmoniresonanssiin ja pintatehostettuun Raman spektroskopiaan perustuvat sensorityypit. Sensorin tuottamaa optisen signaalin muutosta vahvistetaan optisilla kuiduilla tai valomonistinputkilla ja saatava signaali on suoraan tai kääntäen verrannollinen PSA-pitoisuuteen. Niin optisilla kuin elektrokemiallisillakin PSA-aptasensoreilla on saavutettu hyvin pienien PSA-pitoisuuksien havaitseminen luotettavasti.

PSA-aptasensorien merkittävin ongelma on niiden kyvyttömyys erottaa eturauhassyöpä muista PSA-pitoisuutta nostavista sairauksista. Ne nähdään silti tulevaisuuden potentiaalisena tapana havaita eturauhassyöpää PSA:ta määrittämällä, joten aptasensorien tutkimus ja kehitys on tärkeässä roolissa maapallon väestön ikääntyessä.

aptameeri, PSA, biosensori

Sisällys

1 Johdanto	2
2 Aptameerit.....	3
2.1 PSA:ta tunnistavat aptameerit.....	3
2.2 Aptameerien valmistus ja valinta	5
3 Aptasensorit.....	6
3.1 PSA-aptasensorit.....	6
3.2 Sensorien nanomateriaalit.....	7
4 Elektrokemialliset PSA-aptasensorit.....	8
4.1 Elektroniseen impedanssispektroskopiaan perustuvat	8
4.2 Voltammetriaan perustuvat.....	10
4.3 Valosähkökemialliseen menetelmään perustuvat	10
5 Optiset PSA-aptasensorit	11
5.1 Luminesenssiin perustuvat.....	12
5.1.1 Kemiluminesenssiin perustuvat	12
5.1.2 Elektrokemiluminesenssiin perustuvat.....	13
5.1.3 Fluoresenssiin perustuvat.....	14
5.2 Pintaplasmoniresonanssiin ja pintatehostettuun Raman spektroskopiaan perustuvat.....	15
6 Loppuyhteenveto.....	16
7 Kirjallisuus.....	18

1 Johdanto

Miehistä noin yksi kymmenestä sairastuu elämänsä aikana eturauhassyöpään, mikä tekee siitä yleisimmän miehillä esiintyvistä syöivistä Euroopassa. Merkittävin riskitekijä eturauhassyöpään sairastumiselle on ikä, sillä keskimääräinen sairastumisikä Suomessa on yli 70 vuotta. Väestön ikääntyessä syöpätapausten määrä kasvaa, mikä kuormittaa terveydenhuoltoa. (Aalberg ja muut 2013.) Oikeanlaisen hoidon takaamiseksi ja syövästä johtuvien kuolemantapauksien vähentämiseksi on tärkeää kehittää mahdollisimman aikaisessa vaiheessa toimivia detektiomenetelmiä syövän havainnointiin (Ghorbani ja muut 2019).

Sekä normaaleista eturauhassoluista että eturauhasen syöpäsoluista erittyvä prostataspesifinen antigeeni (engl. *prostate-specific antigen*, PSA) on potentiaalinen vaihtoehto käytettäväksi eturauhassyövän havainnointiin. PSA on yksiketjuinen 33–34 kDa:n seriiniproteaaseihin kuuluva glykoproteiini. (Oesterling 1991.) PSA:ta esiintyy veren seerumissa vapaassa muodossa ja konjugoituneena plasmaproteiineihin, ja lukuarvo normaalille PSA-pitoisuudelle seerumissa kasvaa näytteenantajan iän kasvaessa. Normaali arvo 40–49-vuotiaalle on alle 2,5 ng/ml, kun taas 70–79-vuotiaille se on alle 6,5 ng/ml. Kun pitoisuus on normaalia arvoa suurempi, on syytä epäillä eturauhassyöpää. (Aalberg ja muut 2013.) PSA:n pitoisuus seerumissa kasvaa eturauhassyövässä, sillä syöpäsolut hajottavat seinämän epiteelikudoksen ja verisuonen väliltä, jolloin PSA:ta virtaa syöpäkudoksesta vereen (Li ja muut 2022).

Aptameerit ovat lyhyitä ja yksinauhaisia DNA- tai RNA-molekyylejä, jotka pystyvät sekvenssistään ja rakenteestaan riippuen tunnistamaan ja sitomaan eri proteiineja (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). Biosensorit ovat usein näkymättömien biologisten reaktioiden havainnointiin käytettäviä laitteita, jotka käyttävät tiettyä spesifisesti kohdeanalyyttiä sitovaa biomolekyyleä havaittavan signaalin tuottoon (Li ja muut 2022). Aptameeripohjaiset sensorit eli aptasensorit ovat biosensoreita, jotka käyttävät analyyttiä sitovana komponenttina sopivaa aptameeriä (Ghorbani ja muut 2019).

PSA:n määrittämisen aptasensoreita perinteisempiä menetelmiä ovat esimerkiksi tällä hetkellä käytössä olevat keskuslaboratorioissa suoritettavat automatisoidut analyysit ja erilaiset vasta-aineita hyödyntävät immunomääritykset, jotka ovat kalliita ja aikaa ja monimutkaisia tarvikkeita vaativia (Wei ja muut 2018). Monet menetelmistä eivät ole

tarpeeksi herkkiä, ja immunomääritysten vasta-aineiden valmistus, stabiilisuuden ylläpito ja muokkaus on haastavaa (Ghorbani ja muut 2019). Aikaisen vaiheen eturauhassyövän havaitsemiseen tarvitaan hyvin herkkä menetelmä, sillä PSA:n pitoisuus on syövän alkuvaiheessa usein 4–10 ng/ml. Nykyisin käytössä olevilla menetelmillä tarvittavan pitoisuuden luotettava määrittäminen on monimutkaista ja kallista, mikä tekee aikaisen vaiheen diagnosoinnista haastavaa. (Chang ja muut 2018.)

Bio- ja aptasensorien hyödyntäminen PSA-pitoisuuden määrittämisessä mahdollistaisi halvempien, luotettavien ja herkkien menetelmien kehityksen sekä varhaisemman syövän havaitsemisen (Ghorbani ja muut 2019). Sensoreita voidaan käyttää vieritestauksessa, mikä poistaa kuljetuksen vaatiman ajan ja nopeuttaa diagnosointia (Wei ja muut 2018). Aptameerien käyttö sensoreissa nähdään tehokkaana ja yksinkertaisena tulevaisuuden ratkaisuna määrittää syövän biomarkkereita, kuten PSA:ta (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). Tämän tutkielman tarkoitus onkin esitellä erilaisia jo kehitettyjä ja kehitteillä olevia PSA-aptasensoreita sekä niiden ominaisuuksia ja hyötyjä.

2 Aptameerit

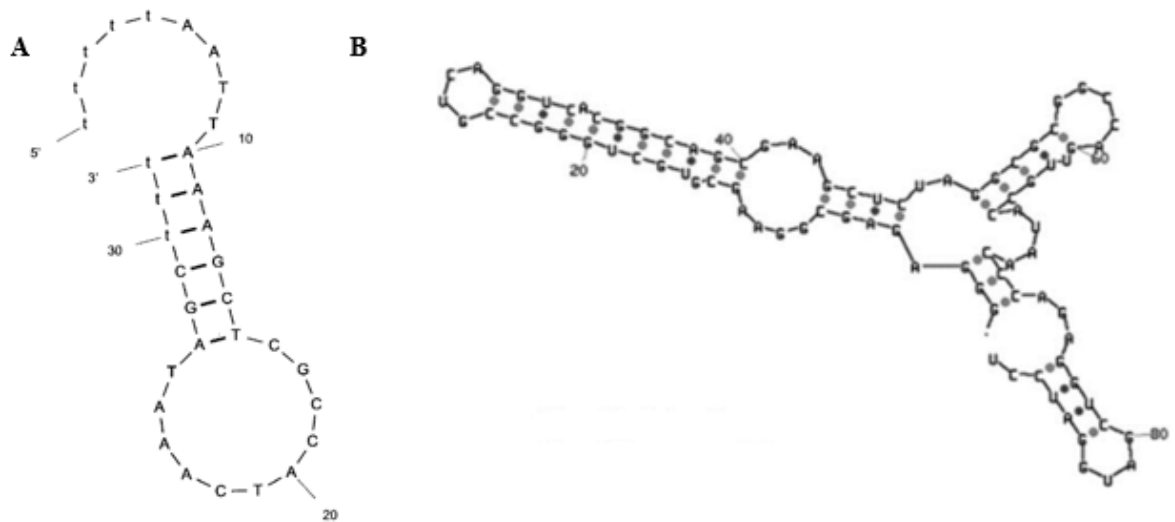
Sensoreissa käytettävät DNA- ja RNA-aptameerit ovat tyypillisesti 20–100 nukleotidin pituisia synteettisesti valmistettuja molekyyliä (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). Niiden kolmiulotteiselle rakenteelle ominaista ovat erilaiset ja -kokoiset proteiinien spesifisen sitomisen mahdollistavat silmukat (Svobodova ja muut 2013). Aptameerit eivät ole immunogeenisiä, eikä niiden tuottamiseen tarvitse immunisoida eläimiä, mitkä ovat huomattavia etuja verrattuna vasta-aineisiin (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). Aptameerejä voidaan uusiokäyttää, niiden suuren kokoluokan tuotto on tarkkaa ja erot tuotettujen erien välillä ovat hyvin vähäisiä (Hsieh ja muut 2017). RNA-aptameereillä on mahdollista luoda DNA:ta monimutkaisempia konformaatioita, mikä saattaa parantaa niiden tunnistustarkkuutta, mutta ongelmana on RNA:n heikko pysyvyys. Sitä voidaan kuitenkin parantaa kemiallisella muokkauksella. (Svobodova ja muut 2013.)

2.1 PSA:ta tunnistavat aptameerit

PSA:ta tunnistavia aptameerejä on kehitetty useita, mutta suurin osa sensoreissa hyödynnetyistä on DNA-aptameerejä (Ghorbani ja muut 2019). Aptameerit voivat sitoutua joko sekä vapaaseen että konjugoituneeseen PSA:han tai vain toiseen, mutta

tavoitteena on sitoutuminen etenkin konjugoituneeseen PSA:han, jonka pitoisuus indikoi eturauhassyöpää paremmin (Jeong ja muut 2010). Ensimmäinen PSA:ta tunnistava DNA-aptameeri on kuvassa 1A esitetty Δ PSap4#5, joka on patentoitu ja jonka sekvenssi on pohjana suurimmalle osalle sensoreissa käytetyistä DNA-aptameereistä (Savory ja muut 2010). Toinen esimerkki DNA-aptameeristä on PSAG28, joka sitoutui jopa kolme kertaa tehokkaammin PSA:han, kuin Δ PSap4#5 mutta jota ei vielä ole hyödynnetty kliinisissä testeissä olleissa sensoreissa (Hsieh ja muut 2017).

Kuvassa 1B esitetty RNA-aptameeri I-1 voisi olla ratkaisu eturauhassyövän erottamiseen muista PSA-pitoisuutta nostavista sairauksista, sillä se tunnistaa vain aktiivista PSA:ta (Jeong ja muut 2010). 2'F-modifioitu RNA-aptameeri S2 on puolestaan kemiallisesti muokattu aptameeri, jonka 5'-pään nukleotidin riboosisokerissa on hydroksyyliiryhmän tilalla fluori. Muokkaus parantaa RNA:n pysyvyyttä ja tekee RNA-aptameerista käyttökelpoisemman sensoreihin. (Svobodova ja muut 2013.) PSA:ta tunnistavia aptameerejä on myös useita muita mainittujen lisäksi. Niistä monien sekvenssissä on samankaltaisuutta taulukossa 1 esitettyjen aptameerien sekvensseihin. Erona on usein vain yksittäisten emästen muutokset tai sekvenssin alkuun tai loppuun lisätyt emäkset. (Ghorbani ja muut 2019.)



Kuva 1. Kahden PSA:ta tunnistavan aptameerin rakenne. (A) DNA-aptameeri Δ PSap4#5:n rakenne (Savory ja muut 2010). (B) RNA-aptameeri I-1:n oletettu rakenne (Jeong ja muut 2010).

Taulukko 1. Yhteenvedo esitellyistä PSA:ta tunnistavista aptameereistä. Taulukoituna on aptameerin nimi, sen tyyppi, sekvenssi sekä valmistuksessa käytetyt menetelmät.

aptameeri	tyyppi	sekvenssi 5' → 3'	valmistustapa
ΔPSap4#5	DNA-aptameeri	tttttAATTAAAGCTCG- CCATCAAATAGCttt	SELEX ja geneettinen algoritmi
PSAG28	DNA-aptameeri	tttttAATATCCGGGGA- ACGTCGTGGCCctt	SELEX, 3D-mallinnus ja laskennalliset menetelmät
I-1	RNA-aptameeri	CCGUCAGGUCACGGCAGCGAA- GCUCUAGGCGCGGCCAGUUGC	SELEX ja counter-SELEX
2'F-modifioitu S2	RNA-aptameeri	2'F-AGCUCCAGAAGAUAAAUUAC- AGGUACGGUUCACGCCUGUCU- CAUGCUGACUAAGAAAGUUUA- GCAACUAGGAUACUAUGACCC	SELEX ja streptavidini-biotiini-testit

2.2 Aptameerien valmistus ja valinta

Aptameerien valmistuksen pohjana käytetään SELEX-tekniikkaa (engl. *systematic evolution of ligands by exponential enrichment*, SELEX), jossa aptameerit syntetisoidaan kemiallisesti suuresta määrästä oligonukleotideja. Menetelmän vaiheet ovat valinta, jaottelu ja laajennus, joita toistetaan syklinä haluttu määrä, tyypillisesti 8–20 kertaa. (Farshchi ja Hasanzadeh 2020.) Valintavaiheessa suurta määrää satunnaisesti valittuja oligonukleotideja inkuboidaan kohdemolekyylin kanssa, jaotteluvaiheessa kohdemolekyyliin sitoutuneet oligonukleotidit eristetään muista ja laajennusvaiheessa valituista oligonukleotideista muokataan erilaisia uusia vaihtoehtoja käytettäväksi seuraavalle kierrokselle. Seuraavassa syklissä käytetään aina edellisen syklin parhaiten kohdemolekyyliin sitoutuneita oligonukleotideja ja niiden johdoksia, ja sykliä toistetaan, kunnes sitoutumistehokkuus kohdemolekyyliin ei enää parane. Lopputuloksena saadaan haluttua molekyylä tunnistava ja sitova aptameeri. (Hsieh ja muut 2017.)

Aptameerien tunnistustehokkuutta voidaan parantaa erilaisilla variaatioilla SELEX-tekniikasta tai hyödyntämällä erilaisia jatkokäsittelymenetelmiä SELEX:n jälkeen (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). PSA-aptameerien valmistuksessa hyödynnetään esimerkiksi counter-SELEX-tekniikkaa, jossa aptameerin spesifisyyttä kohdemolekyyliin testataan tunnistuskokeilla kohdemolekyyliä rakenteellisesti muistuttavien muiden molekyylien kanssa (Jeong ja muut 2010). DNA-aptameerien valmistuksessa voidaan SELEX:n jälkeen hyödyntää geneettistä algoritmia, jossa SELEX:ssä valikoiduista oligonukleotideista muodostetaan uusia sekoittamalla niiden paloja keskenään ja mutatoimalla syntyviä oligonukleotideja. Menetelmä mahdollistaa tehokkaampien aptameerien kehityksen, sillä esimerkiksi PSA:ta tunnistavan Δ PSap4#5-aptameerin sitomistehokkuus saatiin geneettisen algoritmin avulla 48-kertaiseksi verrattuna pelkällä SELEX:llä luotuun aptameeriin. (Savory ja muut 2010.)

Aptameerien toimivaa 3D-rakennetta voidaan myös ennustaa tietokoneohjelmilla, mikä helpottaa oikeiden sekvenssien valintaa jatkokäsittelyyn ja vääränlaisia rakenteita muodostavien sekvenssien karsimista (Hsieh ja muut 2017). Aptameerien sitoutumista ja tehokkuutta voidaan valmistuksen jälkeen vielä testata esimerkiksi reaaliaikaisella PCR:llä tai proteiinin ja oligonukleotidin vuorovaikutuksesta kertovalla elektroforeettisella liikkuvuustestillä (Jeong ja muut 2010).

3 Aptasensorit

3.1 PSA-aptasensorit

Aptasensorit ovat kiintokantajaan sidotusta kohdemolekyyliä tunnistavasta aptameeristä, sitoutumista välittävästä muuntajasta ja signaalin tuottavasta osasta koostuvia biosensoreita, jotka usein hyödyntävät nanomateriaaleja tai -partikkeleita rakenteessaan (Li ja muut 2022). PSA-aptasensoreihin kuuluu elektrokemiallisia ja optisia sensoreita, jotka eroavat toisistaan signaalin tuotto- ja ilmaisutavan perusteella (Ghorbani ja muut 2019). Sensoreissa voidaan käyttää suoraa havainnointia, kilpailevaa määrittystä tai ei-kilpailevaa määrittystä (Chang ja muut 2018). Aptasensoreilla on aptameerien hyvien puolien lisäksi etuna mahdollisuus parantaa havainnoinnin selektiivisyyttä ja herkkyyttä erilaisilla sensorin muokkauksilla tai vahvistuksella (Li ja muut 2022).

PSA-aptasensorit tunnistavat ja sitovat PSA:ta käyttäen esimerkiksi luvussa 2.1 mainittuja tai niitä muistuttavia aptameerejä ja kertovat näytteen PSA-pitoisuudesta signaalilla. PSA-aptasensorin toiminta riippuu sensorityypistä, mutta yhteistä kaikille sensoreille on PSA:ta tunnistavien aptameerien sidonta johonkin sensorin rakenteeseen. Toimiva sidontatapa riippuu sensorin materiaalista, mutta monissa tapauksissa käytetään tioliryhmää, jonka rikki kiinnittyy erillisillä sidoksilla aptameeriin ja pintarakenteeseen yhdistäen ne. (Damborska ja muut 2017.) Useimmiten sidonnassa käytetään hyödyksi myös nanomateriaaleja, jotka voivat samalla osallistua sensorin signaalintuotantoon (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). Osa PSA-aptasensoreista on jo menestynyt kliinisissä testeissä, mutta niitä ei vielä hyödynnetä kaupallisesti (Ghorbani ja muut 2019).

3.2 Sensorien nanomateriaalit

Nanoteknologialla ja nanomateriaaleilla on tärkeä merkitys kehitettäessä pienikokoisia ja yksinkertaisia, mutta tehokkaita ja herkkiä biosensoreita (Srivastava ja muut 2018). Yleisimpiä PSA-aptasensoreissa käytettyjä nanomateriaaleja ovat erilaiset metallinanopartikkelit, kvanttipisteet, magneettinanopartikkelit, grafeenimateriaalit, ja piidioksidi-nanopartikkelit. Monissa sensorityypeissä myös yhdistetään erilaisia nanomateriaaleja. Tietyn nanomateriaalin valintaan vaikuttaa sensorityyppi ja signaalintuottotapa, sillä kullakin materiaalilla on omanlaiset kemialliset ja fysikaaliset ominaisuutensa ja nanomateriaalien tulee PSA-aptameerien sitomisen lisäksi mahdollistaa ja voimistaa signaalin syntymistä. (Farshchi ja Hasanzadeh 2020.)

Metallinanopartikkeleista yleisimpiä aptasensoreissa ovat 1–100 nm kokoiset kulta- ja hopeapartikkelit, joilla on hyvä tehollinen pinta-ala ja joiden kiinnitys muihin sensorimateriaaleihin on suhteellisen helppoa (Li ja muut 2022). Aptasensorien kvanttipisteet ovat 2–10 nm kokoisia puolijohteita, joiden sähkönjohtokykyä voidaan muokata ulkoisten tekijöiden avulla. Tietyistä alkuaineista koostuvien kvanttipisteiden elektronit kykenevät virittymään, jolloin kvanttipiste voi toimia sensorissa fluoresoivan leiman tavoin. (Farshchi ja Hasanzadeh 2020.)

Aptasensoreissa käytettävät magneettinanopartikkelit ovat 1–100 nm partikkeleita, joiden magneettisia ominaisuuksia voidaan hyödyntää joissakin signaalintuottotavoissa ja esimerkiksi partikkelien jaottelussa (Farshchi ja Hasanzadeh 2020.) Grafeeni on sähkönjohtokykynsä ja elektronien liikkuvuuden ansiosta suosittua etenkin elektrokemiallisissa aptasensoreissa (Li ja muut 2022). Piidioksidi-nanopartikkelit ovat

vaihtoehto käytettäväksi kehoon sijoitettavissa aptasensoreissa, sillä niillä on hydrofobinen pinta ja ne ovat huokoisia sekä bioyhteensopivia, mikä mahdollistaa niiden pitkäaikaisen sijoittamisen elimistöön (Farshchi ja Hasanzadeh 2020).

4 Elektrokemialliset PSA-aptasensorit

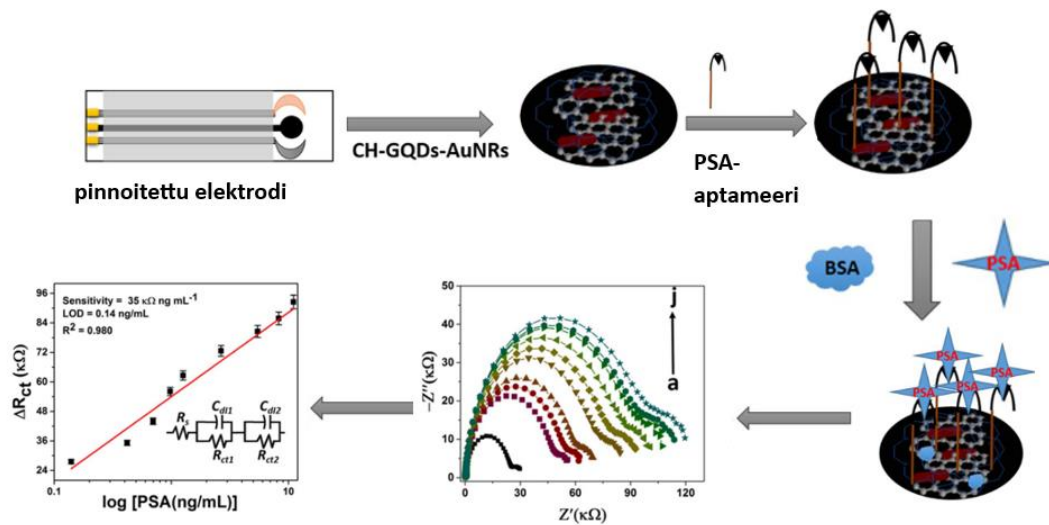
Elektrokemialliset sensorit voidaan signaalityypin perusteella jakaa elektronisen impedanssispektroskopian, voltammetrian, potentiometrian, amperometrian ja valosähkökemiallisen menetelmän sensoreihin (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). Elektrokemiallisissa PSA-aptasensoreissa PSA:ta tunnistava aptameeri on sidottu sähkökemiallisen muuntimen eli elektrodin pintaan ja PSA:n sitoutuminen aptameeriin aiheuttaa mitattavan sähköisen signaalin, jonka tyyppi riippuu käytettävästä sensorista (Ghorbani ja muut 2019). PSA:n sitouduttua elektrodeilla tapahtuu hapetus-pelkistysreaktioita, joiden aiheuttaman muutoksen perusteella signaali syntyy. Sekä muutoksen tyyppi että suuruus vaikuttavat syntyvään signaaliin ja sen voimakkuuteen. (Li ja muut 2022.) Elektrokemiallisten PSA-aptasensorien rakenne koostuu useimmiten aptameerista, sen sitojasta, työ- ja vertailuelektrodista, jotka ovat usein hapetus-pelkistyspari, sekä elektrolyytistä ja signaalin tuottoon tarvittavista komponenteista (Farshchi ja Hasanzadeh 2020).

4.1 Elektroniseen impedanssispektroskopiaan perustuvat

Elektroninen impedanssispektroskopia (*electrochemical impedance spectroscopy*, EIS) on impedanssiin eli tietyn komponentin sinimuotoiselle vaihtovirralla aiheuttamaan vastukseen perustuva menetelmä, jossa käytetyn jännitteen taajuus vaikuttaa vastuksen suuruuteen (Li ja muut 2022). EIS-menetelmässä PSA-aptasensorin pelkkien elektrodien välinen resistanssi on mahdollisimman pieni eli sensorin työ- ja vertailuelektrodien välillä on avoimen piirin potentiaali (Srivastava ja muut 2018). Ilman PSA:ta sensorin elektrodeilla tapahtuvat hapetus-pelkistysreaktiot pääsevät tapahtumaan helposti, sillä elektronit pääsevät siirtymään elektrodin ja elektrolyytin rajapinnassa vaivatta. Kun elektrodin pinnalla PSA sitoutuu aptameeriin, muodostuu elektronien siirtymistä häiritsevä estekeerros, joka estää hapetus-pelkistysreaktioiden täydellisen tapahtumisen ja elektronien siirtyminen vähenee. Elektronien siirtyminen aiheuttaa mitattavan ulostulovirran eli sähköisen vasteen, jonka sensori muuntaa luettavaksi signaaliksi eli sähköiseksi impedanssiksi taajuuden funktiona. (Farshchi ja Hasanzadeh 2020.)

Signaali esitetään kuvassa 2 olevan taajuuden parametrinen Nyquistin kuvaajan avulla, josta muokkaamalla saadaan kuvassa 2 esiintyvä PSA-pitoisuuden kalibraatio-suora. Syntyvän signaalin suuruudesta voidaan päätellä PSA-pitoisuus näytteessä. Mitä pienempi sensorin elektrodeilta ulostuleva sähköinen vaste on, sitä suurempi impedanssi elektrodeissa on. Mitä suurempi impedanssi on, sitä suurempi signaali saadaan ja sitä enemmän PSA:ta on sitoutunut sensorin aptameereihin. (Srivastava ja muut 2018.)

Esimerkiksi Srivastava ja muut (2018) kehittivät kuvassa 2 esiintyvän EIS-menetelmää hyödyntävän PSA-aptasensorin, jossa PSA:ta tunnistava Δ Psap4#5-aptameerin sekvenssiä vastaava aptameeri on sidottuna grafeenikvanttipisteillä ja kultananopartikkeleilla muokattuihin elektrodeihin. Elektrodeina käytettiin hapetus-pelkistysparina toimivaa kalium-heksasyanoferraatti-paria. Sensorissa käytettiin 10 mV vaihtovirtaa ja mitattava taajuusalue oli 0,1 Hz – 10000 Hz. Työryhmän mukaan sensori on potentiaalinen vaihtoehto oikeiden lääketieteellisten näytteiden analysointiin sen yksinkertaisuuden, herkkyyden ja toistotarkkuuden takia. (Srivastava ja muut 2018.)



Kuva 2. Elektronista impedanssispektroskopiaa hyödyntävän PSA-aptasensorin toiminta. Grafeenikvanttipisteillä ja kultananopartikkeleilla pinnoitettuihin elektrodeihin sidotaan PSA-aptameeri, joka BSA-puskurissa sitoo näytteen PSA:ta ja syntyvä signaali esitetään taajuuden parametriseissä Nyquistin kuvaajassa, josta muokataan PSA-pitoisuuden määrittämistä varten standardisuora. (muokattu kuvasta Srivastava ja muut 2018.)

4.2 Voltammetriaan perustuvat

PSA-aptasensoreissa hyödynnettäviä voltammetrisia menetelmiä ovat syklinen voltammetria, differentiaalipulssivoltammetria ja neliöaaltooperusteinen voltammetria joista kaksi ensimmäisenä mainittua ovat yleisimpiä (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). Menetelmien erona on elektrodeille syötettävän jännitteen tyyppi, joka voi olla tasaisena pysyvä tai erilaisina aaltoina muuttuva. Syklisessä voltammetriassa käytetään lineaarisesti tiettyyn ylärajajännitteeseen asti kasvavaa jännitettä. Differentiaalipulssivoltammetriassa käytetään jaksottaisesti kanttiaallon kanssa summattavaa lineaarisesti kasvavaa jännitettä. (Wei ja muut 2018.) Kummassakin tapauksessa sensorin elektrodien välille muodostuu ylipotentialiaali, joka mahdollistaa hapetus-pelkistysreaktiot (Li ja muut 2022). Voltammetriaa hyödyntävissä sensoreissa PSA-pitoisuus määritetään hapetus-pelkistysreaktioiden elektroniliikkeen synnyttämän virta- ja potentiaalisignaalin funktiona. Sensorityypin mukaan signaalin intensiteetti voi joko kasvaa tai pienetä PSA:n määrän kasvaessa. (Srivastava ja muut 2018.)

Esimerkiksi Wei ja muut (2018) kehittivät syklistä voltammetriaa ja differentiaalipulssivoltammetriaa hyödyntävän PSA-aptasensorin, joka koostui kolmesta elektrodista ja kultananopartikkeleista sekä grafeenioksidinanokomposiitista ja Δ Psap4#5-aptameerin sekvenssiä mukailevasta aptameeristä. Differentiaalisen pulssivoltammetrian mittauksissa jännitealue oli -0,5V-0,3 V ja syklisen voltammetrian mittauksissa -0,5V-0,1V. Sensori havaitsi PSA:ta lineaarisella asteikolla pitoisuusvälillä 0,05–200 ng/ml. (Wei ja muut 2018.)

4.3 Valosähkökemialliseen menetelmään perustuvat

Valosähkökemiallisessa menetelmässä (engl. *photoelectrochemical method*, PEC) valaistaan valoherkän materiaalin pintaa tietyn aallonpituuden valolla, jolloin materiaaliin syntyy varauksenkuljettajina toimivia elektroneja ja aukkoja, joiden liike synnyttää sähköisen signaalin. PEC-sensorit sisältävät tavallisesti optoelektrisen komponentin, jossa signaalin muutos optisesta sähköiseksi tapahtuu. Aptasensorien optoelektrisessä komponentissa käytettävät valoherkät materiaalit voidaan jakaa epäorgaanisiin puolijohdemateriaaleihin, orgaanisiin valosähköisiin molekyyliin ja kvanttipisteisiin. Valosähkömenetelmän hyödyntäminen aptasensoreissa yhdistää optisten ja elektrokemiallisten sensorien hyviä ominaisuuksia. Lisäksi PEC-sensoreissa

lähtö- ja tulosignaalit pystytään erottamaan täysin toisistaan, koska toinen on optinen ja toinen sähköinen. Tämä vähentää detektoitavan signaalin häiriötä ja interferointia taustan kanssa. (Li ja muut 2022.)

Esimerkiksi Cai ja muut (2018) kehittivät PSA:ta havaitsevan PEC-aptasensorin, joka koostuu aptameeriin kiinnitetyistä kulta- ja grafeeninanopartikkeleista sekä kadmiumsulfidilla ja titaanidioksidilla käsitellyistä kvanttipisteistä. Aptameerin sisältävät nanopartikkelit irtoavat elektrodipinnasta PSA:n sitoutuessa aptameeriin, jolloin valosähköreaktio pystyy tapahtumaan kvanttipisteissä. Sensorin signaali siis kasvaa PSA-pitoisuuden kasvaessa. (Ghorbani ja muut 2019.)

5 Optiset PSA-aptasensorit

Optisia PSA-aptasensoreita on kehitetty vähemmän, kuin elektrokemiallisia, mutta niihin lukeutuu suuri määrä erilaisia menetelmiä (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). Optisiin sensoreihin kuuluvat erilaiset luminesenssia, kolorimetriaa, pintaplasmoniresonanssia tai pintatehostettua Raman spektroskopiaa hyödyntävät sensorit (Damborska ja muut 2017). Optisten PSA-aptasensorien toiminta perustuu näytteen PSA:n ja sitä tunnistavien aptameerien reaktiossa syntyvään optisen signaalin muutokseen, josta muodostetaan luettava elektroninen PSA:n pitoisuudesta kertova signaali (Li ja muut 2022).

Optisten PSA-aptasensorien peruselementit ovat biologisen reaktion tapahtumapaikkana toimiva anturikerros, signaalin vahvistava komponentti ja optisen signaalin muuntaja. Muuntaja, esimerkiksi resonaattori tai refraktometri, muuntaa sähkömagneettisen säteilyn eli optisen signaalin luettavaksi elektroniseksi signaaliksi. (Li ja muut 2022.) Optisen signaalia tuottoa edistäviä ja vahvistavia komponentteja ovat tietyn aallonpituuden valoa läpäisevät suodattimet, kokonaisheijastumista hyödyntävät optiset kuidut ja elektronien avulla signaalia vahvistavat valomonistinputket (Farshchi ja Hasanzadeh 2020).

Optisten biosensorien etuja ovat esimerkiksi nopea havainnointi, helposti tehtävissä oleva miniatyrisointi ja joissain sensoreissa reaaliaikainen sitoutumisen seuranta. Haasteena optisten sensorien käytölle PSA:n havainnoinnissa on käytettävän väriaineen tai leiman mahdollinen haalistuminen kovalenttisten sidosten katketessa tai epäspesifisen sitoutumisen tapahtuessa. Tällöin leima ei pysty toimimaan oikein tai sen tehokkuus heikkenee, mikä vääristää saatavia tuloksia. (Damborska ja muut 2017.)

5.1 Luminesenssiin perustuvat

Luminesenssi on yläkäsite ilmiöille, joissa molekyyli emittoi viritystilan purkautuessa energiaa valona. Viritystila syntyy molekyylin absorboidessa energiaa, jolloin elektroneja siirtyy absorboituneen energian suuruutta vastaaville ylemmille energiatasoille. (Damborska ja muut 2017.) Luminesenssi voidaan jakaa erilaisiksi alatyypeiksi sen mukaan, mistä virittymiseen vaadittu energia on tullut. Näistä alalajeista optisten PSA-aptasensorien signaalintuotossa hyödynnetään kemi- ja elektrokemiluminesenssia sekä fluoresenssia. (Ghorbani ja muut 2019.)

5.1.1 Kemiluminesenssiin perustuvat

Kemiluminesenssi on luminesenssin alalaji, jossa emittoituva valo tuotetaan kemiallisten reaktioiden avulla. Aptasensoreissa kemiluminesenssia käytettäessä emittoituva valo on verrannollinen PSA-pitoisuuteen. Eri sensoreilla valon määrä voi joko kasvaa tai vähetä PSA-pitoisuuden kasvaessa. Jos valon määrä kasvaa PSA-pitoisuuden kasvaessa, PSA:n sitoutuminen aptameeriin edesauttaa jotakin kemiallista reaktiota, josta emittoituu valoa. Jos valon määrä vähenee PSA-pitoisuuden kasvaessa, PSA:n sitoutuminen aptameeriin estää valoa tuottavan kemiallisen reaktion tapahtumista. (Farshchi ja Hasanzadeh 2020.) Kemiluminesenssin PSA-aptasensoreissa voidaan hyödyntää myös energian siirtoa, jossa kemiallisessa reaktiossa syntyvä energia siirretään korkeaenergisien välituotteiden avulla valoa tuottavalle leimalle tai väriaineelle (Chong ja muut 2019). Kemiluminesenssisensorit mahdollistavat fluoresenssia tai kolorimetriä herkempiä määrittämiä, koska valon tuotto ei vaadi valolähdettä, mikä vähentää kohinan aiheuttamaa vääristymää tuloksissa ja vähentää toimintaan tarvittavien komponenttien määrää yksinkertaisten sensoreita (Damborska ja muut 2017).

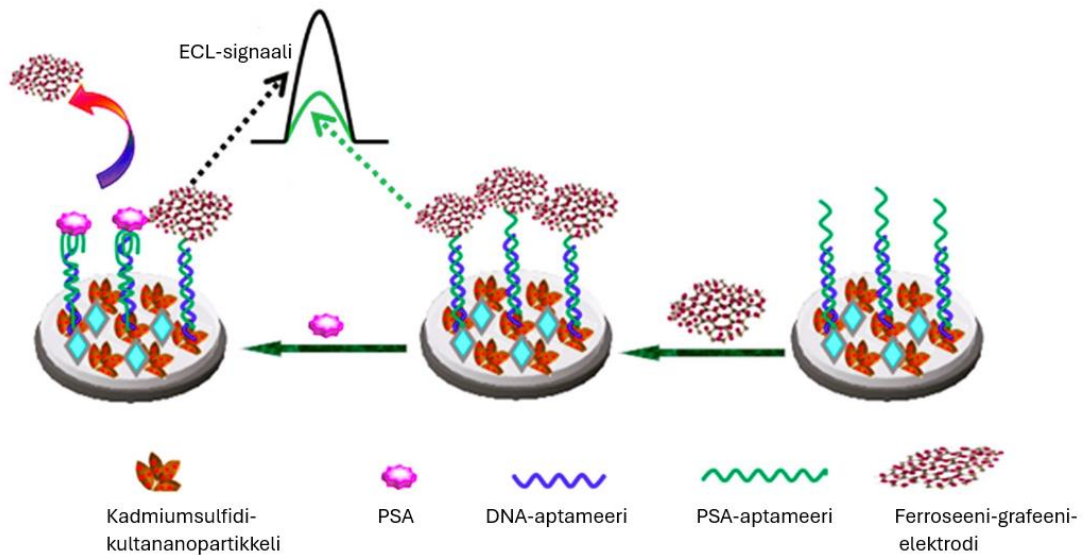
Esimerkiksi Chong ja muut (2019) kehittivät kemiluminesenssia hyödyntävän PSA-aptasensorin, joka käyttää guaniinin kemiluminesenssireaktiota. Sensorissa sekvenssiltään $\Delta\text{Psap4\#5}$ -aptameerin kaltaiset aptameerit sidotaan paramagneettisten helmien pinnalle ja aptameeri on konjugoitu punaista valoa emittoivan Texas Red -leimaväriin kanssa. Sensoriin lisätään 3,4,5-trimetoksisifenyyliglyoksaalin hydraattia, joka PSA-aptameerin guaniinimästen kanssa reagoidessaan tuottaa korkeaenergisien välituotteiden. Välituote siirtää energian konjugoituun leimaväriin, joka emittoi energian valona. PSA:n sitoutuessa aptameeriin guaniinien reaktio estyy, jolloin välituote jää

syntymättä, eikä leima tuota valoa. PSA-pitoisuuden kasvaessa sensorin emittoiman valon määrä siis vähenee. Tunnettujen pitoisuuksien kanssa suoritetuista mittauksista muodostetaan kalibraatiosuora, jonka avulla tuntemattoman pitoisuuden näytteestä voidaan valosignaalin avulla päätellä PSA-pitoisuus. (Chong ja muut 2019.)

5.1.2 Elektrokemiluminesenssiin perustuvat

Elektrokemiluminesenssissa muunnetaan elektrokemiallisissa reaktioissa syntyvää energiaa luminesenssienergiaksi, jonka elektroninsiirrossa virittynyt luminofori emittoi valona. Elektrokemiluminesenssia voidaan hyödyntää aptasensorien signaalituotossa käyttämällä yleisimmin joko luminolia ja vetyperoksidia tai $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -ionia ja tripropyyliamiinia. PSA-pitoisuudesta kertova signaali syntyy, kun luminoforina toimiva luminoli tai ruteniumpohjainen ioni hapettuu ja reagoi reaktioparinsa kanssa muodostaen voimakkaasti pelkistävän radikaalin, josta jatkoreaktioissa muodostuu valoa emittoiva johdos. (Damborska ja muut 2017.) Näiden lisäksi käytössä on muitakin luminoforeja, ja tulevaisuuden kehityskohde on kehittää uudenlaisia ja mahdollisesti bioyhteensopivia luminoforeja (Wang ja Kan 2021). Elektrokemiluminesenssi aptasensoreissa yhdistää kemiluminesenssin ja elektrokemian hyödyt ja lisäksi etuna on lyhyt vasteaika (Farshchi ja Hasanzadeh 2020).

Esimerkiksi Yang ja muut (2017a) kehittivät kuvassa 3 esitetyn PSA:ta detektoivan elektrokemiluminesenssia hyödyntävän aptasensorin, joka käyttää sensorin pintaan sidottuja kadmiumsulfidi-kultananopartikkeleita luminoforeina. Sensoripintaan on kiinnitetty myös sekvenssiltään $\Delta\text{Psap4\#5}$ -aptameeriä muistuttavan aptameerin sitova yksijuosteinen DNA-aptameeri, ja PSA-aptameeriin on sidottuna ferroseeni-grafeenielektrodi. PSA-pitoista näytettä lisättäessä PSA:n sitoutuminen aptameeriin saa elektrodin irtoamaan aptameeristä, mikä aktivoi luminoforin toiminnan synnyttäen valosignaalin. Signaali siis kasvaa PSA-pitoisuuden kasvaessa. (Yang ja muut 2017a.) Wangin ja Kanin (2021) kehittämässä grafeenipintaan sidottuja kultananopartikkeleita hyödyntävässä elektrokemiluminesenssiaptasensorissa saatava signaali puolestaan laskee PSA-pitoisuuden kasvaessa. Siinä PSA:n sitoutuminen $\Delta\text{Psap4\#5}$ -aptameeriin estää elektronien siirtymisen luminolin ja vetyperoksidin välillä, jolloin valoa emittoivan virittyneen luminoforin syntyminen estyy. (Wang ja Kan 2021.)



Kuva 3. Elektrokemiluminesenssia hyödyntävän sensorin rakenne ja toiminta. Sensorin pinnassa on kiinni luminiforeina toimivia kadmiumsulfidi-kultananopartikkeleita ja PSA-aptameeriä sitovaa DNA-aptameeriä, joihin kiinnittyvät PSA-aptameerit ja aptameereihin ferroseeni-grafeenielektrodit. Näytteen PSA:n sitoutuminen aptameeriin irrottaa elektrodin ja mahdollistaa elektrokemiluminesenssisignaalin luminiforeista. (muokattu kuvasta Yang ja muut 2017a.)

5.1.3 Fluoresenssiin perustuvat

Fluoresenssi on yleisin optisissa aptasensoreissa hyödynnetty luminesenssimuoto ja sitä on tutkittu ja hyödynnetty monissa PSA-biosensoreissa yksinkertaisuuden, toistettavuuden ja korkean signaalituoton takia. Fluoresenssissa valoa absorboimalla virittynyt leima tai väriaine emittoi energiaa valona, jonka aallonpituus on alkuperäistä valoa alhaisempi. Erilaisia toteutuksia fluoresenssia hyödyntäville PSA-aptasensoreille on lukuisia, mutta vaatimuksena on fluoresoiva leima, väriaine tai muu komponentti, jonka toiminta tulee saada sidottua PSA-pitoisuudesta riippuvaiseksi. Useimmissa fluoresenssia hyödyntävissä PSA-aptasensoreissa signaalin intensiteetti kasvaa PSA-pitoisuuden kasvaessa. (Farshchi ja Hasanzadeh 2020.) Lisäksi tulee varmistaa, ettei sensorin materiaaleissa esiinny autofluoresoivia komponentteja ja ettei detektoitava fluoresenssisignaali interferoidu taustafluoresenssin kanssa (Damborska ja muut 2017).

Esimerkiksi Kong ja muut (2014) kehittivät fluoresenssia hyödyntävän PSA-aptasensorin, jossa molybdeenisulfidirakenteessa oli sidottuna fluoresoivan FAM-leiman sisältämää $\Delta\text{P}_{\text{sap}4\#5}$ -aptameerin kaltaista aptameeriä. PSA:n sitoutuminen saa

aptameerin irtoamaan sensorin pinnasta, mikä käynnistää aptameerin sammuneen fluoresenssin eli fluoresenssin intensiteetti kasvaa PSA-pitoisuuden kasvaessa. (Damborska ja muut 2017.) Perinteisen fluoresenssin lisäksi aptasensoreissa käytetään fluoresenssi-resonanssi-energiansiirtoa, jossa energia siirtyy eksitoivalta donorilta lähellä olevalle fluoresoivalle vastaanottajalle (Farshchi ja Hasanzadeh 2020). Esimerkki tätä hyödyntävästä PSA-aptasensorista on Furukawan ja muiden (2016) kehittämä piidioksidilla tuetusta grafeenista muodostuva aptasensori, jossa PSA:n sitoutuminen $\Delta P_{sap4\#5}$ -aptameeriin saa grafeenin pintaan kiinnitetyn väriaineen fluoresoimaan. Fluoresenssin intensiteetti kasvaa PSA-pitoisuuden kasvaessa. (Furukawa ja muut 2016.)

5.2 Pintaplasmoniresonanssiin ja pintatehostettuun Raman spektroskopiaan perustuvat

Pintaplasmoniresonanssissa (engl. *surface plasmon resonance*, SPR) metallin vapaat elektronit virittyvät absorboidessaan tietyssä kulmassa tulevien fotonien energiaa, jolloin muodostuu sähkömagneettinen aalto eli pintaplasmoni (Hsieh ja muut 2017). Käytettäessä SPR-menetelmää PSA-aptasensoreissa PSA-pitoisuuden muutokset aiheuttavat muutoksia sensorin taitekertoimeen, mikä vaikuttaa syntyvän pintaplasmonin eli SPR-signaalin intensiteettiin. Esimerkiksi Duan ja muut (2018) kehittivät elektrokemiallisen ja SPR-menetelmän yhdistävän PSA-aptasensorin, jossa kitosaanilla vakautetut kultananopartikkelit vastasivat SPR-signaalin tuotosta. (Farshchi ja Hasanzadeh 2020.)

Pintatehostettu Raman spektroskopia (engl. *surface-enhanced Raman scattering*, SERS) on modernia laser-spektroskopiaa ja metallisten nanorakenteiden optisia ominaisuuksia yhdistävä spektroskopia, joka perustuu laserfotonien joustamattoman sironnan värähtelyspektroskopiaan (Li ja muut 2022). SERS voidaan jakaa suoraan ja epäsuoraan menetelmään, jotka eroavat toisistaan käytettävän signaalireportterin tai -koettimen suhteen. SERS-menetelmää käytettäessä tulee sensorin rakenteessa olla jalometallinanohiukkasia, jotka voimistavat SERS-aktiivisen molekyylin signaalituottoa ja parantavat herkkyyttä mahdollistaen menetelmän käytön. (Zhao ja muut 2022.)

Esimerkiksi Yang ja muut (2017b) kehittivät PSA:ta määrittävän SERS-aptasensorin, jossa sekvenssiltään $\Delta P_{sap4\#5}$ -aptameerin kaltaiset aptameerit on sidottu magneettisiin nanopartikkeleihin ja komplementaarinen juoste sekä SERS-signaalin tuottava koetin kultananopartikkeleihin. PSA:lla on suurempi affiniteetti aptameeriin kuin

komplementaarisella juosteella, joten PSA-pitoisuuden kasvaessa suurempi osa kultananopartikkeleista jää sitoutumatta tuottaen korkean SERS-signaalin. PSA:n määrän ollessa pieni suurempi osa kultananopartikkeleista sitoutuu komplementaarisella juosteella aptameeriin, jolloin signaali on matala. Signaalin intensiteetti siis kasvaa PSA-pitoisuuden kasvaessa. Sensorin lineaarinen havaitsemisalue PSA:lle on 5-500 pg/ml. (Yang ja muut 2017b.)

Zhao ja muut (2022) puolestaan kehittivät SERS-menetelmää hyödyntävän PSA-aptasensorin, jossa SERS-signaalin intensiteetti pienenee PSA-pitoisuuden kasvaessa. Sensorissa SERS-aktiiviselle sirulle kiinnitettiin polystyreeniä ja kolloidista hopeaa sekä Δ Psap4#5-aptameerin kaltaista aptameeriä, jonka guaniiniemäksiin sidottiin SERS-reportterina toimivaa metyleenisinistä. PSA:n sitoutuminen aptameeriin vapauttaa metyleenisini-aptameerikompleksin levyltä, jolloin reportterin vuorovaikutus jalometallihiukkasten kanssa heikkenee ja SERS-signaalin intensiteetti vähenee. (Zhao ja muut 2022.)

6 Loppuyhteenveto

Erilaisia elektrokemiallisia ja optisia menetelmiä hyödyntäviä PSA:ta havaitsevia aptasensoreita on kehitetty eri työryhmien toimesta lukuisia, ja lisäksi muitakin menetelmiä, kuten esimerkiksi pietsosähköiseen ilmiöön tai valon sirontaan perustuvia menetelmiä on käytetty. Erityyppisissä sensoreissa on toiminnan ja materiaalien lisäksi eroja niiden herkkyudessa ja toistotarkkuudessa. (Li ja muut 2022.) Taulukossa 2 on esitetty tutkielmassa esitettyjen sensorityyppien PSA-pitoisuuden havaitsemisrajoja yksiköissä ng/ml ja pg/ml.

Furukawan ja muiden (2016) kehittämää fluoresenssiin perustuvaa sensoria lukuun ottamatta muut esitellyt PSA-aptasensorit kykenisivät teoriassa havaitsemaan eturauhassyövän aikaisessa vaiheessa esiintyvän PSA-pitoisuuden 4–10 ng/ml. Furukawan ja muiden (2016) sensorin havaitsemisraja 100 ng/ml on huomattavasti syövän alkuvaiheen PSA-pitoisuutta suurempi eli se ei pysty havaitsemaan tarvittavia alhaisia pitoisuuksia, kuten muut sensorit. Se on osoitus siitä, että kaikki kehitettävät sensorit eivät saavuta haluttua havainnointitasoa ilman jatkokehitystä. Pelkkien havaitsemisrajojen pohjalta ei voi kuitenkaan tehdä päätöstä sensorien paremmuudesta, sillä arvioinnissa tulee huomioida myös sensorien havaitsemistapa ja käytetyt materiaalit

(Damborska ja muut 2017). Sensorissa käytetyllä PSA:ta tunnistavalla aptameerilla ja sen ominaisuuksilla on lisäksi merkittävä rooli sensorin toimintaa arvioitaessa, ja aptasensorikehitys hyötyy aptameerien kehitystyöstä (Hsieh ja muut 2017).

Aptasensorien hyödyntäminen voisi tulevaisuudessa toimia ratkaisuna pienten PSA-pitoisuuksien ja aikaisen vaiheen eturauhassyövän havainnoinnissa. Ongelmana tällä hetkellä on PSA:ta erittävien eri sairauksien erottelu, sillä pelkkä kohonnut PSA-pitoisuus ei aina tarkoita eturauhassyöpää, vaan voi johtua myös eturauhastulehduksesta tai eturauhasen liikakasvusta. (Ghorbani ja muut 2019.) Aptasensoreilla tavoitellaan helpompaa syövän havaitsemista ja diagnosointia, joten väärin diagnoosien välttämiseksi sensorien kehittäminen on tärkeää. PSA-aptasensorien kehitystutkimus keskittyy usein tiettyihin kyseisellä hetkellä potentiaalisina pidettyihin menetelmiin, joita todennäköisesti tulevaisuudessa ovat aikaisemmin vähemmän huomiota saaneet menetelmät, kuten valosähkökemiallinen menetelmä. Samalla myös esimerkiksi uusien nanomateriaalien tutkimus ja hyödyntäminen kasvattaa rooliaan aptasensorien kehityksessä ja herkkyyden parantamisessa. (Farshchi ja Hasanzadeh 2020.)

Taulukko 2. Yhteenvedo tutkielmassa esitetyistä sensoreista. Kunkin sensorin työryhmä, sensorityyppi, käytetyn aptameerin sekvenssiä vastaava aptameeri ja PSA:n havaitsemisraja eli alin sensorilla havaittavissa oleva PSA-pitoisuus.

kehittäjät	havainnointitapa	aptameeri	havaitsemisraja
Elektrokemialliset PSA-aptasensorit			
Srivastava ja muut (2018)	impedanssispektroskopia	$\Delta\text{Psap4\#5}$	0,14 ng/ml
Wei ja muut (2018)	voltammetria	$\Delta\text{Psap4\#5}$	10 pg/ml
Cai ja muut (2018)	valosähkökemiallinen	ei tietoa	0,52 pg/ml
Optiset PSA-aptasensorit			
Chong ja muut (2019)	kemiluminesenssi	$\Delta\text{Psap4\#5}$	0,6 ng/ml
Yang ja muut (2017)	elektrokemiluminesenssi	$\Delta\text{Psap4\#5}$	0,38 pg/ml
Wang ja Kan (2021)	elektrokemiluminesenssi	$\Delta\text{Psap4\#5}$	5 pg/ml
Kong ja muut (2014)	fluoresenssi	$\Delta\text{Psap4\#5}$	0,2 ng/ml
Furukawa ja muut (2016)	fluoresenssi	$\Delta\text{Psap4\#5}$	100 ng/ml
Duan ja muut (2018)	pintaplasmoniresonanssi	ei tietoa	0,71 pg/ml
Yang ja muut (2017)	pintatehostettu Raman	$\Delta\text{Psap4\#5}$	5 pg/ml
Zhao ja muut (2022)	pintatehostettu Raman	$\Delta\text{Psap4\#5}$	6 pg/ml

7 Kirjallisuus

- Aalberg, V., Aittomäki, K., Anttila, A., Anttila, V.-J., Arola, J., Blomqvist, C., Österlund, P. (2013) *Syöpätaudit*. (H. Joensuu, S. Jyrkkiö, P.-L. Kellokumpu-Lehtinen, M. Kouri, P. J. Roberts, & L. Teppo, Toim.) (5., uudistettu painos, Vsk. 2013). Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Chang, Y., Wang, M., Wang, L. & Xia, N. (2018) Recent progress in electrochemical biosensors for detection of prostate-specific antigen. *Int J Electrochem Sci* **13**:4071–4084.
- Chong, J., Chong, H. & Lee, J. H. (2019) A chemiluminescent dual-aptasensor capable of simultaneously quantifying prostate specific antigen and vascular endothelial growth factor. *Anal Biochem* **564–565**:102–107.
- Damborska, D., Bertok, T., Dosekova, E., Holazova, A., Lorencova, L., Kasak, P. & Tkac, J. (2017) Nanomaterial-based biosensors for detection of prostate specific antigen. *Microchim Acta* **184**:3049–3067.
- Farshchi, F. & Hasanzadeh, M. (2020) Nanomaterial based aptasensing of prostate specific antigen (PSA): Recent progress and challenges in efficient diagnosis of prostate cancer using biomedicine. *Biomed Pharmacother* **132**:110–127.
- Furukawa, K., Ueno, Y., Takamura, M. & Hibino, H. (2016) Graphene FRET aptasensor. *ACS Sens* **1**:710–716.
- Ghorbani, F., Abbaszadeh, H., Dolatabadi, J. E. N., Aghebati-Maleki, L. & Yousefi, M. (2019) Application of various optical and electrochemical aptasensors for detection of human prostate specific antigen: A review. *Biosens Bioelectron* **142**:111–125.
- Hsieh, P.-C., Lin, H.-T., Chen, W.-Y., Tsai, J. J. P. & Hu, W.-P. (2017) The Combination of computational and biosensing technologies for selecting aptamer against prostate specific antigen. *BioMed Res Int* **2017**:1–11.

- Jeong, S., Han, S. R., Lee, Y. J. & Lee, S.-W. (2010) Selection of RNA aptamers specific to active prostate-specific antigen. *Biotechnol Lett* **32**:379–385.
- Li, M., Jiang, F., Xue, L., Peng, C., Shi, Z., Zhang, Z., Chen, X. (2022) Recent progress in biosensors for detection of tumor biomarkers. *Molecules* **27**:73–101.
- Oesterling, J. E. (1991) Prostate specific antigen: A critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol* **145**:907–923.
- Savory, N., Abe, K., Sode, K. & Ikebukuro, K. (2010) Selection of DNA aptamer against prostate specific antigen using a genetic algorithm and application to sensing. *Biosens Bioelectron* **26**:1386–1391.
- Srivastava, M., Nirala, N. R., Srivastava, S. K. & Prakash, R. (2018) A comparative study of aptasensor vs immunosensor for label-free PSA cancer detection on GQDs-AuNRs modified screen-printed electrodes. *Sci Rep* **8**:19–30.
- Svobodova, M., Bunka, D. H. J., Nadal, P., Stockley, P. G. & O’Sullivan, C. K. (2013) Selection of 2’F-modified RNA aptamers against prostate-specific antigen and their evaluation for diagnostic and therapeutic applications. *Anal Bioanal Chem* **405**:9149–9157.
- Wang, Y. & Kan, X. (2021) Sensitive and selective “signal-off” electrochemiluminescence sensing of prostate-specific antigen based on an aptamer and molecularly imprinted polymer. *The Analyst* **146**:7693–7701.
- Wei, B., Mao, K., Liu, N., Zhang, M. & Yang, Z. (2018) Graphene nanocomposites modified electrochemical aptamer sensor for rapid and highly sensitive detection of prostate specific antigen. *Biosens Bioelectron* **121**:41–46.
- Yang, J.-J., Cao, J.-T., Wang, H., Liu, Y.-M. & Ren, S.-W. (2017a) Ferrocene-graphene sheets for high-efficiency quenching of electrochemiluminescence from Au nanoparticles functionalized cadmium sulfide flower-like three dimensional assemblies and sensitive detection of prostate specific antigen. *Talanta* **167**:325–332.

Yang, K., Hu, Y., Dong, N., Zhu, G., Zhu, T. & Jiang, N. (2017b) A novel SERS-based magnetic aptasensor for prostate specific antigen assay with high sensitivity. *Biosens Bioelectron* **94**:286–291.

Zhao, J., Wang, J., Liu, Y., Han, X. X., Xu, B., Ozaki, Y. & Zhao, B. (2022) Detection of prostate cancer biomarkers via a SERS-based aptasensor. *Biosens Bioelectron* **216**:114–127.