TURUN YLIOPISTO
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Polymeerit syöpädiagnostiikassa käytettävissä elektrokemiallisissa sensoreissa

Amanda Rahola

Detektioteknologian tutkimusryhmä
LuK-tutkielma
Laajuus: 6 op

17.4.2025
Turku

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

LuK-tutkielma

Pääaine: Kemia
Tekijä: Amanda Rahola
Otsikko: Polymeerit syöpädiagnostiikassa käytettävissä elektrokemiallisissa sensoreissa
Ohjaaja: Kari Kopra
Sivumäärä: 31 sivua
Päivämäärä: 17.4.2025

Eri syöpätyyppien diagnostiikassa esiintyy edelleen merkittäviä haasteita, minkä vuoksi tarvitaan jatkuvasti parempia ja tehokkaampia menetelmiä syövän havaitsemiseksi.[1] Syöpä jää usein tunnistamatta, mikä vaikeuttaa hoitoa ja heikentää potilaiden ennustetta.[1,2] Nykyiset diagnosointimenetelmät, kuten kudosbiopsia, ovat usein invasiivisiä, kalliita ja aikaa vieviä.[3] Tulevaisuudessa tarvitaan erityisesti herkkiä ja spesifisiä diagnostiikkamenetelmiä, jotka kykenevät havaitsemaan syövän ajoissa esimerkiksi biomarkkereiden avulla.[2] Biomarkkereiden tunnistuksessa hyödynnetään sensoreita, jotka koostuvat tunnistuskomponentista, muuntimesta ja signaalinkäsittely-yksiköstä.[2,4] Tunnistuskomponentin, kuten vasta-aineen tai nukleiinihapon, tehtävänä on tunnistaa analyytti ja sitoutua sen kanssa. Tämän jälkeen muunnin muuttaa vuorovaikutuksen sähköiseksi signaaliksi, jota voidaan vahvistaa tai käsitellä signaalinkäsittely-yksikössä.[4] Elektrokemialliset sensorit perustuvat virran, jännitteen tai impedanssin mittaamiseen, jolloin signaalitasojen muutoksista voidaan määrittää biomarkkerin konsentraatio näytteessä.[4] Elektrokemiallisten sensoreiden ominaisuuksia on mahdollista parantaa käyttämällä polymeerejä sensoreissa.[2] Nämä voivat olla johtavia polymeerejä, hydrogeelejä, molekyylijäljenteisiä polymeerejä tai komposiitteja. Polymeerit ovat hyvin muokattavia, jonka takia niihin voidaan liittää erilaisia tunnistuskomponentteja riippuen siitä, mitä biomarkkeria halutaan tunnistaa. Polymeeripohjaiset elektrokemialliset sensorit ovat entistä herkempiä ja spesifisiä menetelmiä polymeerien ominaisuuksien vuoksi, mikä tekee niistä lupaavia välineitä syövän varhaisessa diagnostiikassa ja hoidon vasteen seurannassa.[2]

Tutkielmassa käsitellään elektrokemiallisia DNA-sensoreita ja immunosensoreita, joilla voidaan tunnistaa plasmasta löytyviä rintasyövän biomarkkereita CA15-3 ja BRCA1, ja vertaillaan näiden sensoreiden soveltuvuutta syövän diagnostiikkaan. Lisäksi tarkastellaan polymeerejä poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni) (PEDOT) ja polypyrroli (PPy), sekä niiden roolia ja merkitystä sensorin suorituskyvyn parantamisessa.

Avainsanat: BRCA1, CA15-3, diagnostiikka, DNA-sensori, elektrokemialliset sensorit, immunosensori, johtavat polymeerit, PEDOT, polypyrroli, syöpä

Sisällysluettelo

Lyhenteet 4

1 Johdanto 5

2 Sensorit syöpädiagnostiikassa 6

2.1 Syöpäbiomarkkerit 7

2.1.1 BRCA1 8

2.1.2 CA15-3 8

2.1.3 BRCA1 ja CA15-3 syöpädiagnostiikassa 9

2.2 DNA-sensorit 10

2.3 Immunosensorit 12

3 Polymeerit sensoreissa 15

3.1 Hydrogeelit, molekyylijäljenteiset polymeerit ja komposiitit sensoreissa 16

3.2 Johtavat polymeerit sensoreissa 17

3.2.1 PEDOT 18

3.2.2 Polypyrroli 20

4 Polymeeripohjaisten sensorien vertailu ja tulevaisuus 21

4.1 Johtavien polymeerien vertailu 21

4.2 Sensoreiden vertailu 23

4.3 Tulevaisuus 25

5 Yhteenveto ja johtopäätökset 26

Viitteet 27

Lyhenteet

Ab	Vasta-aine (engl. antibody)
Ag	Antigeeni (engl. antigen)
cfDNA	Veren solunulkoinen DNA (engl. circulating free DNA)
CP	Johtavat polymeerit (engl. conducting polymers)
CVD	Kemiallinen höyrysaostus (engl. chemical vapor deposition)
DPV	Differentiaalinen pulssivoltammetria (engl. differential pulse voltammetry)
EDS	1-etyyli-3-(3-dimetyyliaminopropyyli) karbodi-imidi
ELISA	Entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys
EP	Sähkökemiallinen polymerointi
EQCM	Sähkökemiallinen kvartsikide-mikrotasapainotekniikka (engl. electrochemical quartz crystal microbalance)
GCE	Lasihiilielektrodi (engl. glassy carbon electrode)
ICP	*In situ* -kemiallinen polymerointi (engl. in situ chemical polymerization)
LOD	Havaintoraja (engl. limit of detection)
MB	Metyleenisininen
MIP	Molekyylijäljenteiset polymeerit (engl. molecularly imprinted polymers)
MRI	Magneettikuvaus (engl. magnetic resonance imaging)
NHS	N-hydroksisukkinimidi
PA	Polyasetyleeni
PANI	Polyaniliini
PEDOT	Poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni)
PET	Positroniemissiotomografia
PNA	Peptidinukleiinihappo
PNC	Polymeerinanokomposiitit (engl. polymer nanocomposites)
PPy	Polypyrroli
PSS	Polystyreenisulfonaatti
PTh	Polytiofeeni
ssDNA	Yksijuosteinen deoksiribonukleiinihappo
TT	Tietokonetomografia
VPP	Kemiallinen polymerointi höyryfaasissa (engl. vapor-phase chemical polymerization)

1 Johdanto

Syövät ovat maailmanlaajuisesti toiseksi yleisin kuolinsyy sydän- ja verisuonitautien jälkeen.[5] Rintasyöpä oli naisten yleisin syöpätyyppi vuonna 2020, jolloin diagnosoitiin uusia tapauksia 2,26 miljoonaa ja niiden ennustetaan lisääntyvän vuoteen 2040 mennessä 3,19 miljoonaan.[6,7] Syövässä solut irtautuvat elimistön kontrollista solumuutosten seurauksena, jolloin syöpäsolut käyttävät signalointireittejä itse hyödykseen varmistaakseen oman lisääntymisen, selviytymisen ja liikkumisen.[8] Rintasyövän ennusteet ovat riippuvaisia varhaisesta diagnostiikasta, jolloin tärkeää on tunnistaa syöpä ja sen riskitekijät, kuten mutaatiot tai muut altistavat tekijät ajoissa.[9] Erityisesti varhaista diagnostiikkaa on kehitettävä matalan ja keskitulotason maissa, sillä korkeamman tulotason maissa yli 70 % rintasyöpäpotilaista saa diagnoosin I ja II levinneisyysasteen syövissä, mutta matalan ja keskitulotason maissa vastaava osuus on vain noin 20–50 %.[2]

Biomarkkereiden hyödyntäminen diagnostiikassa mahdollistaa syövän herkän ja spesifisen tunnistuksen.[2] Biomarkkerit ovat proteiineja, nukleiinihappoja, vasta-aineita tai peptidejä, jotka löytyvät verestä, kehon nesteistä tai kudoksista, ja jotka viittaavat normaaliin tai poikkeavaan biologiseen prosessiin, tilaan tai sairauteen.[2] Esimerkiksi rintasyöpään liittyviä biomarkkereita, kuten BRCA1 ja CA15-3 on mahdollista löytää plasmasta.[10,11] Tällä hetkellä syövän toteamisessa, seurannassa ja ennusteiden arvioimisessa hyödynnetään biomarkkereita muiden menetelmien ohella, mutta lopullinen syöpädiagnoosi saadaan vasta kudos- tai solunäytteiden avulla.[3] Kudosnäytteiden ongelmana on se, että näytteenotto on invasiivista, eikä näytettä ole aina mahdollista saada esimerkiksi kasvaimen hankalan sijainnin takia.[3] Koska rintasyöpään liittyviä biomarkkereita voidaan havaita plasmasta, potilaasta otetaan verinäyte, josta biomarkkerit voidaan tunnistaa.[2] Näiden diagnostiikkamenetelmien tulee kuitenkin olla herkkiä ja spesifisiä, koska sairaiden ja terveiden henkilöiden biomarkkereiden konsentraatioerot ovat usein pieniä.[2,12]

Biomarkkereihin perustuvia menetelmiä, kuten immunohistokemia, entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys ja fluoroimmunomääritys, käytetään rintasyövän diagnostiikassa.[13] Biomarkkereihin perustuvat menetelmät ovat herkkiä ja selektiivisiä, mutta menetelmien rajoituksia ovat korkeat kustannukset ja suuri ajantarve.[13] Rajoituksista huolimatta biomarkkereihin perustuvat menetelmät ovat keskeinen osa rintasyövän diagnostiikkaa, koska ne mahdollistavat diagnosoinnin ja sairauden etenemisen seurannan.[13] Elektrokemialliset sensorit kiinnostavat biomarkkereiden diagnosointimenetelminä, sillä ne tarjoavat halvan hinnan lisäksi korkean spesifisyyden ja herkkyyden erilaisten analyyttien tunnistamiseen.[14] Elektrokemiallisten sensoreiden tuottama sähköinen signaali, joka perustuu virran, jännitteen tai impedanssin muutokseen, mahdollistaa biomarkkerin konsentraation määrittämisen kuvaajasta.[4] Sensoreiden spesifisyys ja herkkyys riippuvat mittauksissa käytetyn tunnistuselementin, kuten entsyymin, vasta-aineen tai nukleiinihapon, kyvystä tunnistaa analyytti.[15,2] Sensorien etuja ovat hyvä toistettavuus ja alhainen hinta, sekä ne ovat kudos- ja solunäytteisiin verrattuna vähemmän invasiivinen diagnostiikkamenetelmä.[15]

Elektrokemiallisissa sensoreissa voidaan käyttää johtavia polymeerejä (CP, engl. conducting polymers), mikä parantaa sensorien herkkyyttä, selektiivisyyttä ja vakautta.[16] Johtavat polymeerit parantavat elektroninsiirtoa, minkä ansiosta biomarkkereita voidaan tunnistaa matalista pitoisuuksista.[16] Lisäksi ne voivat nopeasti vaihtaa hapetus- ja pelkistystilaansa, mikä parantaa sensorin herkkyyttä ja spesifisyyttä.[16] Johtavien polymeerien suuri pinta-ala, kemiallinen stabiilisuus ja bioyhteensopivuus tekevät niistä soveltuvia materiaaleja biosensoreihin. Sen lisäksi polymeerien ominaisuuksia voidaan muokata useilla tavoilla, kuten seostuksella tai funktionalisoinnilla.[4,16] Tyypillisiä sensoreissa käytettäviä johtavia polymeerejä ovat polypyrroli (PPy), polytiofeeni (PTh), poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni) (PEDOT), polyaniliini (PANI) ja polyasetyleeni (PA).[16]

Tässä tutkielmassa mallimolekyyleinä käytetään seerumista löytyviä rintasyövän biomarkkereita: antigeeniä (CA15-3) ja DNA:ta (BRCA1). BRCA1 on tuumorisuppressorigeeni, jonka mutaatioiden tiedetään lisäävän rintasyövän riskiä.[17] CA15-3 on antigeeni, jonka pitoisuuden nousu kertoo syövän metabolisesta aktiivisuudesta, ja sen pitoisuus plasmassa nousee erityisesti III ja IV levinneisyysasteen syövissä.[10] Nämä biomarkkerit voidaan tunnistaa joko immunosensoreilla tai DNA-sensoreilla. Tässä tutkielmassa vertaillaan näiden sensoreiden soveltuvuutta syövän diagnostiikkaan, sekä tarkastellaan polymeerien roolia ja ominaisuuksia elektrokemiallisissa sensoreissa.

2 Sensorit syöpädiagnostiikassa

Sensorit ovat laitteita, joilla mitataan jotakin fysikaalista tai kemiallista suuretta.[4] Fysikaaliset sensorit mittaavat esimerkiksi lämpötilaa tai painetta, kun taas kemialliset sensorit tunnistavat molekyylejä.[4] Kemiallisiin sensoreihin kuuluvat biosensorit, joissa hyödynnetään biomolekyylejä tai biologisia rakenteita tunnistuksessa.[4] Biosensorit luetaan kemiallisiksi sensoreiksi, koska niiden signaalinmuutosmenetelmät ovat samoja.[4] Sensori koostuu tunnistuskomponentista, muuntimesta ja signaalinkäsittely-yksiköstä.[4] Syöpädiagnostiikassa käytettävissä biosensoreissa tunnistuskomponentti on esimerkiksi proteiini, entsyymi tai vasta-aine, jonka tehtävänä on tunnistaa ja kiinnittää syöpäbiomarkkeri tunnistuskomponenttiin.[4] Muunnin muuttaa tunnistuskomponentin ja analyytin välisen vuorovaikutuksen mitattavaksi signaaliksi, joka on suoraan verrannollinen vuorovaikutusten määrään.[15,18] Tämän jälkeen signaali kulkeutuu signaalinkäsittely-yksikköön, jossa sitä muokataan esimerkiksi vahvistamalla tai käsittelemällä se sopivampaan muotoon.[4,19] Signaalien muutoksista voidaan määrittää biomarkkerin konsentraatio, jota hyödynnetään syövän diagnostiikassa, hoidon vasteen arvioinnissa ja kliinisten lopputulosten ennustamisessa.[4,6,19]

Sensoreissa käytetään useita eri menetelmiä syöpäbiomarkkereiden kvalitatiiviseen ja kvantitatiiviseen analyysiin.[2] Tyypillisesti elektrokemiallinen sensori koostuu elektrokemiallisesta kennosta, jossa on kaksi tai kolme elektrodia.[20] Näistä työelektrodi toimii varsinaisena tunnistuselektrodina, kun taas vertailuelektrodia ja vastaelektrodia käytetään tarkkuuden parantamiseksi.[20] Työelektrodi valmistetaan kemiallisesti stabiilista ja sähköä johtavasta materiaalista,

kuten kullasta, hiilestä tai platinasta.[20] Elektrokemiallisiin mittausmenetelmiin kuuluvat amperometria, potentiometria, voltammetria, impedanssispektroskopia ja kulometria.[2] Nämä menetelmät perustuvat potentiaalin, varauksen, virran tai johtavuuden mittaamiseen.[2] Amperometrinen mittaustapa on yleisin käytetty menetelmä biosensoreissa ja se perustuu virran mittaamiseen biologisen elementin hapettumis- tai pelkistysreaktion seurauksena.[2] Potentiometrinen mittaus perustuu kahden elektrodin välisen potentiaalieron mittaamiseen, missä Nernstin yhtälö kuvaa potentiaalieron olevan suoraan verrannollinen biomarkkerin konsentraatioon.[2] Voltametrisissä menetelmissä työelektrodille johdetaan jännite ajan funktiona, ja mitataan siitä seuraava virta työelektrodin ja vastaelektrodin välillä.[2,21] Impedimetrinen mittaus perustuu impedanssin muutokseen elektrodien välillä.[2,4] Kulometria mittaa varausten siirtymistä sähkökemiallisten redox-reaktioiden aikana.[2]

Elektrokemialliset sensorit ovat lupaavia syöpädiagnostiikassa, sillä ne ovat yksinkertaisia mittausmenetelmiä, joilla on lyhyt vasteaika ja riittävä selektiivisyys.[2] Ne soveltuvat syövän varhaiseen seulontaan, tukevat lääkärin diagnostisia päätöksiä ja mahdollistavat hoidon vasteen seurannan.[13] Vaikka elektrokemialliset sensorit ovat tehokkaita jo nyt, voidaan niiden ominaisuuksia parantaa korvaamalla perinteiset sensorimateriaalit, kuten puolijohteet, puolijohtavat metallioksidit, kiinteät elektrolyytit, ioniset membraanit ja orgaaniset puolijohteet, johtavilla polymeereillä.[2,22] Johtavien polymeerien käyttö parantaa merkittävästi sensoreiden herkkyyttä ja spesifisyyttä, sillä π-orbitaalirakenteen ja ketjukonformaation vuoksi ne tuottavat nopeasti sähköisiä signaaleja, mikä mahdollistaa biomarkkereiden entistä herkemmän havaitsemisen kehon eritteistä.[2,15] Sensoreiden suorituskykyyn vaikuttavat johtavien polymeerien koko, rakenne, sähkökemiallinen johtavuus ja morfologia.[15] Sen lisäksi johtavat polymeerit ovat helposti muokattavia, jolloin liittämällä erilaisia funktionaalisia ryhmiä johtavaan polymeeriin kiinni, voidaan säätää niiden sähköisiä ominaisuuksia ja vakautta.[15,22] Tunnistuskomponentit ovat yksinkertaisia kiinnittää polymeeriin muokattavuuden takia, ja neljä pääsääntöistä kiinnitystekniikkaa ovat fysikaalinen adsorptio, lukitseminen huokoisen materiaalin sisään (engl. entrapment), kovalenttinen sitoutuminen ja affiniteettisitoutuminen.[23] Vaikka elektrokemiallisilla sensoreilla on paljon potentiaalia, menetelmällä on kuitenkin paljon haasteita erityisesti kliinisessä soveltuvuudessa.[24,25] Elektrokemiallisten sensorien ominaisuuksia käsitellään tarkemmin luvussa 3.

2.1 Syöpäbiomarkkerit

Biomarkkerit ovat merkkiaineita, joita löytyy verestä, kehon nesteistä tai kudoksista, ja jotka viittaavat normaaliin tai poikkeavaan biologiseen prosessiin, tilaan tai sairauteen.[12] Ne voivat olla esimerkiksi geenejä, proteiineja tai muita molekyylejä, ja voivat kertoa suoraan syövän metabolisesta aktiivisuudesta (CA15-3) tai geneettisestä taipumuksesta sairastua syöpään (BRCA1).[2,26] Syöpäbiomarkkereiden konsentraatio on yleensä korkeampi syöpää sairastavilla ihmisillä, mitä voidaan käyttää hyödyksi syövän diagnosoinnissa ja hoidon vasteen seurannassa.[2] Kuitenkin myös jotkin sairaudet saattavat lisätä

niiden määrää, mikä voi viitata syövän lisäksi myös muihin sairauksiin ja fysiologisiin muutoksiin elimistössä.[2] Biomarkkereita voidaan hyödyntää diagnostiikassa riskiarvioimisessa, kasvaimen luonteen määrittelyssä sekä hoitovasteen ja ennusteen arvioinnissa.[2] Ne soveltuvat esimerkiksi invasiivista rintasyöpää sairastaneiden syövän uusiutumisen seurantaan leikkauksen jälkeen, jolloin havaitaan jopa oireettomat muutokset.[10]

Geneettisiä, proteiinipohjaisia ja epigeneettisiä biomarkkereita käytetään paljon diagnostiikassa jo nyt, sillä niistä on saatu vahva tieteellinen näyttö ja ne voivat luotettavasti ennustaa kliinisiä lopputuloksia.[6] Ihanteellisella merkkiaineella tulisi olla ominaisuuksia, jotka mahdollistavat helpon, luotettavan ja kustannustehokkaan tunnistuksen sekä korkean herkkyyden ja spesifisyyden.[12] Kasvaimet erittävät merkkiaineita verenkiertoon, jolloin niitä voidaan tutkia verinäytteestä. Seerumi ja verihiutaleet erotetaan toisistaan sentrifugilla, jolloin verisolut painuvat koeputken pohjaan ja ylemmästä kerroksesta saadaan eristettyä seerumi tutkimuksia varten. Seerumista löytyviä rintasyövän biomarkkereita on useita erilaisia, kuten BRCA1 ja CA15-3.[10,11]

2.1.1 BRCA1

BRCA1 on tuumorisuppressorigeeni eli se ehkäisee monisoluisen eliön soluja muuttumasta kasvainsoluiksi korjaamalla DNA-kaksoisjuosteen vaurioita.[13,17] Vaikka BRCA1 ehkäisee solun liiallista ja hallitsematonta jakautumista, tiedetään sen mutaatioiden lisäävän merkittävästi rintasyövän lisäksi munasarja- ja eturauhassyövän riskiä.[27] Kuitenkin mutaatiot selittävät rintasyöpätapauksista vain noin 5–10 %.[27,28] BRCA1 on autosomaalisesti periytyvä mutaatio kromosomissa 17 alueella q21 ja sen tiedetään dominoivan normaalin geenin toimivan kopion.[29] BRCA1:n tehtävänä on koodata proteiinia, joka koostuu 1863:sta aminohaposta.[17] BRCA1:n toiminnan on ehdotettu riippuvan solunsisäisestä sijainnista, mutta useat tutkimukset ovat eri mieltä sen tarkasta paikasta.[17,29] Kuitenkin viimeisimpien tutkimusten mukaan BRCA1 saattaa sijaita tumakalvon ympäristössä ja solutumaan tunkeutuvissa putkimaisissa rakenteissa.[17,29] Syöpädiagnostiikassa BRCA1-mutaatioiden tunnistaminen on keskeistä, ja niitä hyödynnetään geneettisissä analyyseissä, varhaisessa diagnosoinnissa ja rintasyövän kliinisessä hoidossa.[30] Kuitenkin BRCA1-biomarkkerin käyttöä tutkimuksissa rajoittaa erityisesti sen spesifisyyteen ja näytteen valmistukseen liittyvät haasteet.[17]

2.1.2 CA15-3

CA15-3 on usein rintasyöpäsoluissa esiintyvä glykoproteiini.[31] Se on MUC-1 proteiinin liukoinen muoto ja sitä hyödynnetään rintasyöpäpotilaiden hoitovasteen seurannassa sekä syövän uusiutumisen varhaisessa havaitsemisessa.[10] CA15-3 normaalina pitoisuutena pidetään 0–30 U/ml.[31] Varhaisessa vaiheessa olevassa rintasyövässä sen pitoisuus on koholla vain noin 10 % verrattuna terveisiin henkilöihin, sillä varhaisessa vaiheessa oleva rintasyöpä harvoin lisää sen määrää veressä, koska sitä ei erity juurikaan verenkiertoon.[10] Tällöin CA15-3 havainnointi varhaisessa vaiheessa on haastavampaa

kuin III ja IV levinneisyysasteen syövissä, joissa sen pitoisuus on koholla noin 50–70 % verrattuna terveisiin henkilöihin.[32] Haasteena CA15-3-antigeenin käytössä tutkimuksissa on sen alhainen diagnostinen spesifisyys, mikä aiheuttaa epätarkkoja tuloksia, jolloin syöpää ei aina tunnisteta tai saadaan virheellisiä positiivisia tuloksia.[12] Sen lisäksi CA15-3 ei aina viittaa rintasyöpään vaan, sen pitoisuus kasvaa myös muissa syöpätyypeissä, kuten adenokarsinoomassa, munasarja-, haima-, maha- ja keuhkosyövissä, jolloin se tarjoaa tietoa useiden eri syöpätyyppien mahdollisesta esiintyvyydestä.[33]

2.1.3 BRCA1 ja CA15-3 syöpädiagnostiikassa

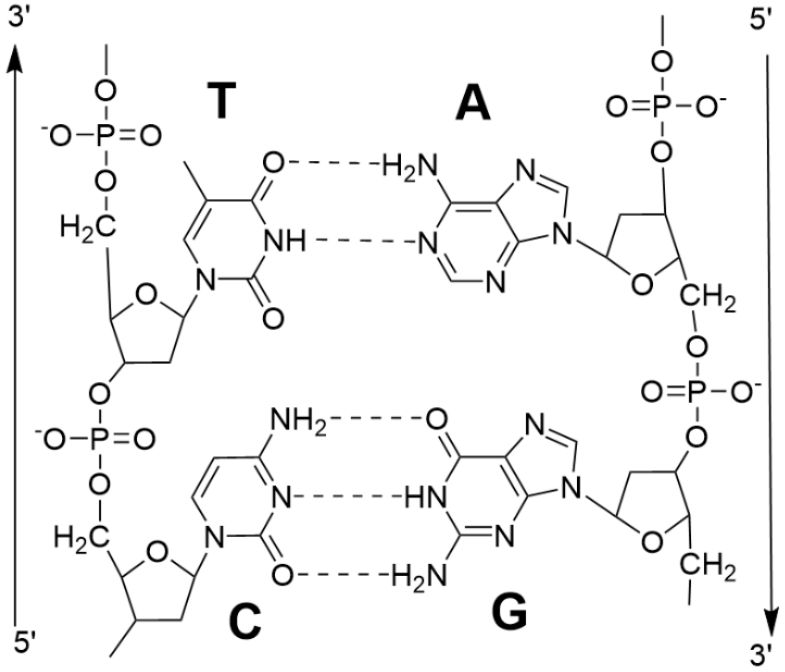
BRCA1 ja CA15-3 ovat tärkeitä biomarkkereita rintasyövän diagnostiikassa ja hoitovasteen seurannassa, mutta ne eroavat käyttötarkoitusten ja rajoitusten osalta. Sen lisäksi niiden tunnistamisessa käytettävien sensoreiden herkkyys vaihtelee. BRCA1 soveltuvuus varhaiseen diagnostiikkaan on rajallinen, sillä sen mutaatiot selittävät vain noin 5–10 % rintasyöpätapauksista, eikä se sovellu taudin etenemisen seurantaan, sillä BRCA1 mutaatiot kertovat perinnöllisestä alttiudesta, eikä aktiivisen taudin tilasta.[28] CA15-3 antigeenin pitoisuus veressä on varhaisessa vaiheessa vain noin 10 % korkeampi verrattuna terveisiin henkilöihin, jolloin sen soveltuvuus varhaiseen diagnostiikkaan on huono.[10] Kuitenkin se soveltuu hyvin hoidon vasteen seurantaan erityisesti III ja IV levinneisyysasteen syövissä, jossa sen pitoisuus on 50–70 % korkeampi verrattuna terveisiin henkilöihin.[10]

BRCA1:n käyttö varhaisessa diagnostiikassa on parempi kuin CA15-3, sillä BRCA1 voidaan havaita jo ennen kasvaimen kehittymistä, sillä BRCA1:n mutaatiot aiheuttavat elinikäisen riskin rintasyövälle.[28,10] Tällöin syövän ilmaantumista voidaan seurata esimerkiksi kontrollikäynneillä, jotka mahdollistavat syövän varhaisen tunnistuksen.[28,10] CA15-3 ei sovellu varhaiseen diagnostiikkaan, mutta se soveltuu erityisesti III ja IV levinneisyysasteen syöpien diagnostiikkaan sekä hoidon vasteen seurantaan.[10] Lisäksi CA15-3:n alhainen spesifisyys heikentää sen luotettavuutta rintasyövän biomarkkerina.[12,33] Kuitenkin CA15-3 viittaa rintasyövän lisäksi myös muihin syöpätyyppeihin, jolloin sen käyttäminen diagnostiikassa ja hoidon seurannassa on hyödyllistä.[33]

Rintasyövän kliinisessä tutkimuksessa on tärkeää käyttää useampaa biomarkkeria, sillä yksittäiset biomarkkerit eivät ole täysin spesifisiä, jolloin vain yhden biomarkkerin käyttö voi lisätä virheellisten tulosten määrää.[24,34,35] Useiden biomarkkereiden, kuten BRCA1:n ja CA15-3:n, yhdistäminen diagnostiikassa parantaa tulosten luotettavuutta tarjoamalla tietoa syövän biologisesta aktiivisuudesta ja geneettisestä riskistä.[24,34] Useamman biomarkkerin käyttöä yhdessä on jo tutkittu jonkin verran, mutta sensoreita on kehitettävä, jotta ne soveltuvat useamman analyytin käyttöön. Esimerkiksi yksi immunosensorin merkittävänä haasteena on useiden analyyttien samanaikainen määritys yhdellä laitteella.[32] Nykyiset analytiikan trendit keskittyvät yksinkertaisten ja *in situ* -mittauslaitteiden kehittämiseen.[32]

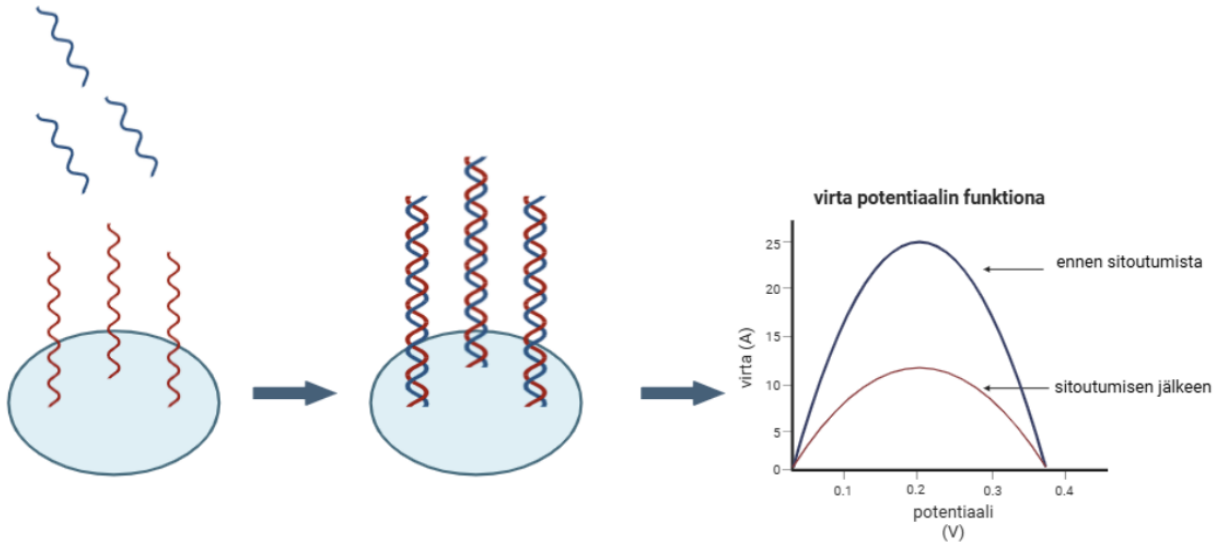
2.2 DNA-sensorit

DNA-sensorit perustuvat yleisimmin immobilisoidun oligonukleotidin ja sen komplementaarisen juosteen hybridisaatioon, jolloin ne muodostavat stabiilin kaksoisjuosteen emäsparien välille muodostuvien vetysidosten avulla.[36] Menetelmä on spesifinen, sillä ainoastaan komplementaariset sekvenssit hybridisoituvat koettimen kanssa, mikä mahdollistaa geenimutaatioiden tunnistuksen tunnetun sekvenssin perusteella.[37] Vetysidoksia (Kuva 1) muodostuu adeniinin ja tymiinin välille kaksi sekä guaniinin ja sytosiinin välille kolme.[18] Emäkset jaetaan pyrimidiineihin ja puriineihin, joissa pyrimidiineissä on yksi rengasrakenne ja puriineissa kaksi rengasrakennetta. Pyrimidiinejä ovat sytosiini, tymiini ja RNA:ssa urasiili, sekä puriineja guaniini ja adeniini.



Kuva 1. DNA-kaksoisjuosteen rakenne. Vastakkaissuuntaiset juosteet muodostavat kaksoiskierteen, jota adeniinin ja tymiinin sekä sytosiinin ja guaniinin väliset vetysidokset stabiloivat.[36]

DNA-sensori perustuu komplementaaristen juosteiden hybridisaatioon, mikä mahdollistaa tietyn syöpäbiomarkkerin herkän ja spesifisen tunnistamisen.[36] Tällöin sensorissa käytetään koetinta, jonka sekvenssi on komplementaarinen kohteena olevalle syöpäbiomarkkerille.[36] DNA-sensoreihin voidaan liittää useita koettimia, mikä mahdollistaa useiden eri geenimutaatioiden samanaikaisen tunnistamisen.[37] Tällöin esimerkiksi DNA-sensori pystyy tunnistamaan BRCA1-geenin useita eri mutaatioita samalla sensorilla. Yleensä komplementaarinen juoste merkitään jollakin tunnisteella, jolloin sitoutuminen havaitaan ja se voidaan kvantifioida.[36] Biomarkkerin kiinnittyminen koettimeen (Kuva 2) aiheuttaa signaalin, jonka voimakkuus on suoraan verrannollinen hybridisaation määrään.[36] Tästä voidaan muodostaa kuvaaja, josta määritetään näytteessä olevan biomarkkerin konsentraatio.[36]



Kuva 2. DNA-sensorin toimintaperiaate voltammetrisellä menetelmällä. Kun analyytti hybridisoituu koettimeen, saadaan kuvaaja virta potentiaalin funktiona, josta voidaan määrittää biomarkkerin konsentraatio.[36] Virta pienenee sitoutumisen jälkeen, koska elektroninsiirto hidastuu.[38]

DNA-sensoreissa voidaan käyttää useita erilaisia koettimia, mutta yleisimmät koettimet ovat yksijuosteisia deoksiribonukleiinihappoja (ssDNA, engl. single-stranded deoxyribonucleic acid) tai oligonukleotidejä, mutta myös lähetti-RNA:ta (mRNA) voidaan käyttää.[36] Jos lähetti-RNA:ta käytetään, muutetaan se yleensä käänteiskopioinnilla cDNA:ksi, sillä se on stabiilimpi verrattuna mRNA:han.[36] Sensoreiden suunnittelussa tulee kiinnittää huomiota immobilisaatiomenetelmiin, jolla kiinnitetään tunnistuskomponentti sensoriin niin, että se pysyy stabiilina ja toimintakykyisenä.[36] Haasteena on se, että tunnistuskomponentti ei saa irrota pinnasta ja sen tulee säilyttää kykynsä hybridisoitua immobilisoinnin jälkeen, jotta se soveltuu käytettäväksi sensoreihin.[36] Prosessiolosuhteet kuitenkin usein muuttavat tunnistuskomponenttien kemiallista rakennetta, mikä saattaa heikentää niiden tunnistuskykyä.[36]

DNA-sensoreilla voidaan tunnistaa cfDNA:ta (engl. circulating free DNA), mikä mahdollistaa kasvainten ja geneettisten muutosten havaitsemisen, sillä cfDNA:n pitoisuus syöpäpotilailla on usein korkeampi kuin terveillä henkilöillä.[2,39] Vaikka cfDNA:n tarkkaa alkuperää ei tiedetä, syöpä voi vaikuttaa systeemisesti solujen uusiutumiseen tai DNA:n poistumiseen, jolloin cfDNA:n pitoisuus plasmassa kasvaa.[39] CfDNA:n pitoisuus on syöpää sairastavilla korkeampi kuin terveillä, mutta sen pitoisuus riippuu syöpätyypistä.[39] Syöpätyypit voidaan jakaa luokkiin o, I, II, III ja IV levinneisyyden mukaan.[39] Terveillä henkilöillä cfDNA:n pitoisuus on yleensä plasmassa välillä 1–10 ng/ml, kun taas cfDNA:n pitoisuus syöpäpotilailla I-III levinneisyysasteen syövissä on 12,6 ± 18,1 ng/ml. Keuhkosyöpää sairastavilla cfDNA:n pitoisuus on matalin eri syöpätyypeistä eli 5,23 ± 6,4 ng/ml ja maksasyövässä korkein eli 46,0 ± 35,6 ng/ml.[39]

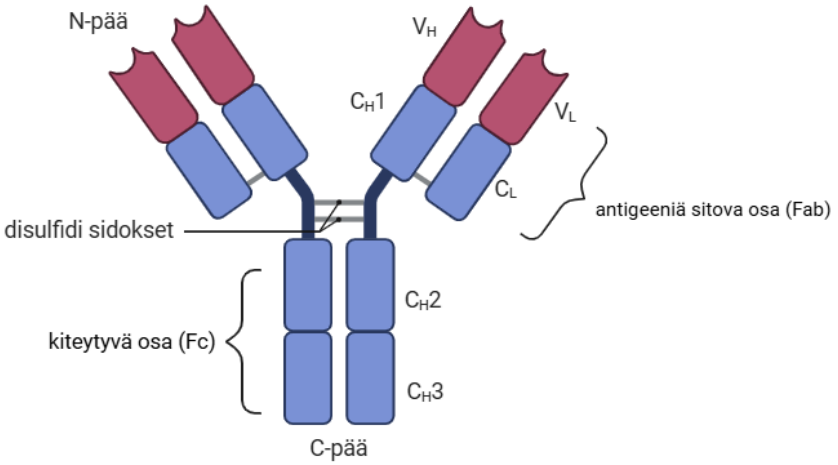
DNA-sensoreilla on mahdollista tunnistaa cfDNA:n lisäksi BRCA1-geeni, kuten Wang et al. tekemässä tutkimuksessa.[2,11] Wangin tutkimuksessa valmistettiin poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni)-

kerros, joka oli seostettu kahtaisionisella (engl. zwitterion) polypeptidillä, DNA-sensorin lasielektrodin (GCE) pinnalle.[2,11] GCE/PEDOT/PEP inkuboitiin DNA-kiinnitysliuoksessa, joka sisälsi kytkentäaineina N-hydroksisukkinimidia (NHS) ja 1-etyyli-3-(3-dimetyyliaminopropyyli) karbodi-imidia (EDS).[2,11] Lisäksi indikaattorina käytettävä metyleenisininen (MB) kiinnitettiin sensorielektrodin pinnalle.[2,11] Tämän jälkeen BRCA1:n pitoisuus määritettiin differentiaalisella pulssivoltammetrialla (DPV).[2,11] Koska DNA-koettimen ja BRCA1:n välillä on vahvoja vuorovaikutuksia, MB irtoaa pinnalta ja virran vaste pienenee.[2,11] Tutkimuksessa BRCA1-geeniä lisättiin tarkasti ihmisseerumiin, jolloin biosensorin tuloksen oikeellisuus oli 95,2 %–105,0 % ja suhteellinen keskihajonta 3,93 %–5,37 %, joka osoitti PEDOT/PEP-pohjaisen sensorin soveltuvan käytettäväksi ihmisen seeruminäytteiden analysointiin.[11] Sen lisäksi BRCA1:n ultrasensitiivistä havaitsemista varten on onnistuttu valmistamaan sähkökemiallisesti pelkistetty grafeenioksidi-PPy-komposiitti.[40] Johtavalla polymeerillä pinnoitettu pelkistetty grafeenioksidi tarjosi enemmän aktiivisia paikkoja DNA:n immobilisointiin.[40] BRCA1:n kvantitatiivinen havaitseminen oli mahdollista lineaarisella alueella 10 fM–0,1 µM ja havaintoraja oli jopa 3 fM veriseerumissa.[40,2]

2.3 Immunosensorit

Vasta-ainemääritykset ovat olleet keskeinen menetelmä syövän tunnistuksessa viimeisen 40 vuoden aikana, mutta periaatetta voidaan soveltaa myös elektrokemiallisissa immunosensoreissa.[24] Esimerkiksi CA15-3-biomarkkerin tunnistuksessa käytetään immunomäärityksiä, mutta niiden ongelmana ovat menetelmien monimutkaisuus ja korkea hinta.[33] Tärkeimmät diagnostiikassa käytettävät menetelmät ovat entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys (ELISA, engl. enzyme-linked immunosorbent assay) sekä fluoroimmunomääritys-, kemiluminesenssi- ja elektrokemiluminesenssi-immunomääritys, jotka tarjoavat korkean herkkyyden ja selektiivisyyden.[24] Kuitenkin nämä menetelmät ovat hitaita, kalliita ja vaativat koulutettua henkilökuntaa sekä monimutkaista laitteistoa, jonka takia tarvitaan tehokkaampia ja käytännöllisempiä vasta-ainemäärityksiä.[24]

Immunosensorit perustuvat vasta-aineen (Ab, engl. antibody) ja antigeenin (Ag, engl. antigen) spesifiseen sitoutumiseen. Vasta-aineet eli immunoglobuliinit ovat glykoproteiineja, jotka tunnistavat antigeenejä.[21] Niitä on kahta päätyyppiä, jotka ovat monoklonaaliset ja polyklonaaliset vasta-aineet.[21] Monoklonaaliset vasta-aineet ovat spesifisiä yhtä epitooppia eli antigeenimolekyylin osaa kohtaan, johon immuunijärjestelmä reagoi.[21] Polyklonaaliset vasta-aineet ovat heterogeeninen vasta-aineseos, jonka vasta-aineet voivat sitoutua useisiin epitooppeihin samassa antigeenissä, mikä johtaa monimuotoiseen immuunivasteeseen.[21] Tyypillisesti vasta-aine (Kuva 3) koostuu kahdesta raskaasta sekä kahdesta kevyestä polypeptidiketjusta.[21] Vasta-aineet koostuvat kahdesta antigeeniä sitovasta osasta (Fab, engl. fragment antigen-binding) ja kahdesta raskaasta polypeptidiketjusta koostuvasta Fc-alueesta (engl. fragment crystallizable), jotka sitoutuvat toisiinsa disulfidisidoksilla vakauttaen rakenteen.[21]



Kuva 3. Vasta-aineen rakenne. Vasta-aine koostuu antigeeniä sitovasta osasta (Fab) ja kiteytyvästä osasta (Fc). Fab-alueet sitoutuvat antigeenin kanssa ja Fc-alue vastaa immuunijärjestelmän aktivaatiosta.[21]

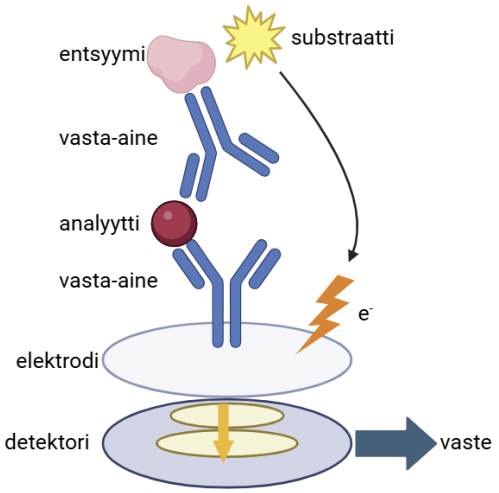
Vasta-aineen ja antigeenin sitoutumisessa muodostuu antigeeni-vasta-ainekompleksi.[21] Vasta-aineen ja antigeenin spesifinen sitoutuminen mahdollistavat kohdeanalyytin selektiivisen tunnistamisen monimutkaisista biologisista näytteistä, kuten seerumista.[33] Muodostuvan antigeeni-vasta-ainekompleksin vahvuutta kuvataan affiniteettivakiolla (K_A) (yhtälö 1), joka kertoo kompleksin stabiilisuudesta.[2,21] Affiniteettivakio (yhtälö 2) määritellään assosiaatiovakioksi, kun taas dissosiaatiovakio (K_D) on sen käänteisluku.[21] Ab ja Ag kuvaavat sitoutumattomien vasta-aineiden ja antigeenien konsentraatiota ja Ab-Ag on tasapainotilassa muodostuneiden antigeeni-vasta-ainekompleksien konsentraatio.[21]

$$K_A = \frac{[Ab - Ag]}{[Ab]\,[Ag]} \tag{1}$$

$$Ab + Ag \underset{K_D}{\overset{K_A}{\rightleftharpoons}} Ab - Ag \tag{2}$$

Antigeeni-vasta-ainereaktioissa hyödynnetään useita eri merkkiaineita, kuten entsyymejä, radioaktiivisia merkkiaineita, kemiluminesoivia yhdisteitä ja fluoroforimerkkiaineita.[21] Entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys (ELISA, engl. enzyme-linked immunosorbent assay) on yleisin käytetty menetelmä, joka jakautuu sandwich- ja kilpaileviin määrityksiin.[21] Immunosensoreissa sandwich-menetelmän käyttö on yleistä.[19] Siinä antigeeni (Kuva 4) sitoutuu ensin sensorin pinnalla olevaan vasta-aineeseen, jonka jälkeen sitoutunut antigeeni tunnistetaan toisella, merkityllä vasta-aineella.[19] Koska vasta-aineet eivät ole yleensä sähköisesti aktiivisia halutulla potentiaalialueella, käytetään usein vasta-aineisiin kiinnitettyjä yhdisteitä tai entsyymejä merkkiaineina, jotka kykenevät tuottamaan mitattavan sähköisen signaalin.[41] Signaali syntyy, kun lisätään entsyymin substraattia, joka

reagoi vasta-aineeseen kiinnittyneen entsyymin kanssa muodostaen varautuneita reaktiotuotteita, jotka havaitaan elektrodilla.[21,19] Sandwich-menetelmän haasteena on kuitenkin se, että analyytillä täytyy olla useita vasta-aineiden sitoutumiskohtia.[21]



Kuva 4. Elektrokemiallisen immunosensorin toimintaperiaate. Tunnistuskomponenttina on vasta-aine, joka tunnistaa tiettyä antigeenin epitooppia, jonka jälkeen merkitty vasta-aine liittyy antigeeniin. Signaalit syntyvät, kun entsyymin substraatti reagoi entsyymin kanssa ja muodostaa varautuneita reaktiotuotteita, jotka havaitaan elektrodilla.[19]

Immunosensoreita käytetään CA15-3-antigeenin havainnointiin, jonka pitoisuus veressä on hyvin pieni erityisesti varhaisessa vaiheessa, minkä takia havaitsemismenetelmien pitää olla herkkiä ja luotettavia.[33] Nämä sensorit ovat spesifisiä, mutta pienet kemialliset muutokset antigeenin rakenteessa voivat heikentää sen affiniteettia vasta-aineisiin.[21] Sensorit mahdollistavat immunoreaktioiden reaaliaikaisen seurannan suoraan detektoripinnalla ja näin yksinkertaistaa analytiikkaa.[24,2] Esimerkiksi elektrokemialliset impedanssi-immunosensorit mittaavat vasta-aineen ja antigeenin sitoutumisen aiheuttamia muutoksia lähes ilman reagensseja ja erotteluvaiheita.[24] Johtavien polymeerien tehtävänä on osallistua hapetus-pelkistysreaktioihin, joiden avulla vasta-aineen ja antigeenin välisestä sitoutumisesta muodostuva signaali voidaan siirtää analysoitavaksi muuntajan kautta käyttäjälle.[2]

Polypyrrolipohjaisilla elektrokemiallisilla immunosensoreilla on erinomainen kyky estää ei-toivottuja elektrokemiallisia vuorovaikutuksia samalla, kun ne edistävät elektroninsiirtoa redox-entsyymeistä, mikä tekee niistä erityisen soveltuvan biotunnistukseen.[16] PPy-pohjaisilla sensoreilla on kuitenkin useita haasteita, jotka estävät niiden käyttöä ja tehokkuutta.[16] Keskeisiä ongelmia ovat sensoreiden heikentyminen kemiallisten reaktioiden, materiaalin väsymisen tai johtavien polymeerien muutosten takia, mikä johtaa herkkyyden heikkenemiseen ja vasteominaisuuksien muuttumiseen.[16] Lisäksi sensoreiden vaste riippuu ympäristötekijöistä, kuten lämpötilasta, kosteudesta ja pH:sta, jotka aiheuttavat haasteita tunnistukseen.[16] Monimutkaisissa näytematriiseissa, kuten plasmassa, esiintyy samankaltaisia molekyylejä, jotka heikentävät sensoreiden selektiivisyyttä ja aiheuttavat virheellisiä tai epätarkkoja tuloksia.[16]

3 Polymeerit sensoreissa

Polymeerit ovat pitkäketjuisia molekyylejä, joilla on erittäin suuri molekyylipaino ja ne koostuvat useista monomeeriyksiköistä.[42] Monomeerit liittyvät toisiinsa kovalenttisilla sidoksilla, jolloin polymeeri saa suuren kokonsa.[42] Polymeerien valmistuksessa yleisiä menetelmiä ovat polyadditio ja polykondensaatioreaktio.[42] Polyadditiossa monomeerien kaksoissidokset avautuvat muodostaen lineaarisen molekyylin.[42] Polykondensaatioreaktiossa monomeerien funktionaaliset ryhmät reagoivat ja pienikokoiset molekyylit, kuten vesi, lohkeavat pois.[42] Polymeerit jaetaan luokkiin esimerkiksi alkuperän, rakenteen, monomeerien tai molekyylien välisten voimien avulla.[43] Polymeerit soveltuvat useisiin eri sensorisovelluksiin, kuten terveyden seurantaan, elintarviketurvallisuuteen, ympäristöanalytiikkaan sekä kertakäyttöisiin väri-indikaattoreihin.[43]

Polymeerit voivat olla sensoreissa aktiivisina sensorimateriaaleina, eli ne muuttavat ominaisuuksia ärsykkeiden vaikutuksesta, tai passiivisina alustoina, joihin varsinainen tunnistuskomponentti immobilisoidaan.[43] Polymeerien kemiallisia ja fysikaalisia ominaisuuksia voidaan muokata, mikä tekee niistä soveltuvia materiaaleja sensoreihin.[22] Polymeerit mahdollistavat paremman selektiivisyyden ja nopeamman signaalintuoton perinteisiin sensorimateriaaleihin verrattuna.[22] Sen lisäksi polymeerien ominaisuuksia voidaan helposti muokata seostuksella tai funktionalisoinnilla, mikä mahdollistaa polymeerien ominaisuuksien muokkaamisen sensoreihin soveltuvaksi.[15,22] Polymeerien ominaisuudet, kuten sähkönjohtavuus, muokattavuus, rakenne ja pinta-ala, vaikuttavat suoraan sensorien ominaisuuksiin, kuten sitoutumiskohteiden määrään.[14,2]

Tunnistuskomponenttien immobilisaatiomenetelmät ovat tärkeitä biosensorien suunnittelussa, jotta haluttu tunnistuselementti voidaan kiinnittää sensoriin.[2] Sopivan menetelmän valinta riippuu käytettävän biomarkkerin ominaisuuksista, mutta yleisimmät menetelmät ovat kiinnitys polymeerimatriisiin, kovalenttinen liittäminen funktionalisoidulle pinnalle, affiniteettiperusteinen immobilisointi ja fyysinen adsorptio kiinteälle pinnalle.[36] Polymeerien muokattavuus auttaa erilaisten tunnistuskomponenttien, kuten vasta-aineiden tai DNA:n kiinnittämisessä, jolloin voidaan hyödyntää useita eri immobilisaatiotekniikoita.[36] Tyypillisesti tunnistuselementit on kiinnitettävä suoraan johtavan polymeerin pintaan oikeassa orientaatiossa, jotta valikoivuus, herkkyys ja toiminnallinen kestävyys optimoidaan.[36] Tehokas ja yksinkertainen immobilisaatiomenetelmä on keskeistä sensoreiden suunnittelussa, sillä sen tulee mahdollistaa tunnistuskomponentin kiinnittäminen sensoriin niin, ettei se tuhoudu.[36] Useat menetelmät aiheuttavat kemiallisia muutoksia tunnistuselementteinä käytettäviin biomolekyyleihin, joka voi vaikuttaa tunnistuskapasiteettiin.[36] Lisäksi sensoriin pitää saada vakaa tunnistuselementtikerros, joka ei irtoa sensorin pinnasta ja joka säilyttää tunnistuskykynsä kiinnityksen jälkeen.[36]

3.1 Hydrogeelit, molekyylijäljenteiset polymeerit ja komposiitit sensoreissa

Yleisiä sensoreissa käytettäviä polymeerejä ovat johtavat polymeerit, hydrogeelit, molekyylijäljenteiset polymeerit ja komposiitit.[18,43,44,45,46] Polymeerit parantavat kohdemolekyylien tunnistusta ja voivat toimia kantajina tai tukirakenteina esimerkiksi fluoresoiville yhdisteille, väriaineille tai metallinanohiukkasille.[43] Tämä mahdollistaa kohdeanalyytin havaitsemisen polymeerin fysikaalisten ja kemiallisten muutosten kautta.[43] Sen lisäksi polymeerien reaktiivisuus, bioyhteensopivuus, joustavuus ja kestävyys mahdollistavat sensoreiden ominaisuuksien muokkaamisen.[43]

Hydrogeelit ovat kolmiulotteisia polymeerejä, jotka kykenevät sitomaan vettä polymeeriverkkoonsa.[47] Hydrogeelien kolmiulotteinen rakenne muodostuu kemiallisissa hydrogeeleissä kovalenttisilla sidoksilla ja fysikaalisissa hydrogeeleissä heikoilla sidoksilla.[18] Hydrogeelien etuna on se, että niillä on useita funktionaalisia ryhmiä, kuten hydroksyyli-, karboksyyli-, amiini- ja amidiryhmiä, joiden avulla voidaan säätää turpoamissuhdetta, hajoamisnopeutta, elastisuutta, viskositeettia ja jäykkyyttä halutunlaiseksi.[47] Hydrogeelit kiinnostavat sensoreissa, koska ne voivat toimia biologisten sensoreiden ja biologisten komponenttien välillä niiden erinomaisen bioyhteensopivuuden takia.[18] Hydrogeelit voivat joko itse reagoida ympäristön muutoksiin, tai niihin voidaan kiinnittää biomolekyylejä.[18] Näiden muutokset voidaan muuntaa mitattavaksi signaaliksi.[18]

Molekyylijäljenteiset polymeerit (MIP, engl. molecularly imprinted polymers) ovat synteettisiä reseptoreita, jotka on suunniteltu tunnistamaan tietty kohdemolekyyli.[48] MIPin ja analyytin välinen sitoutuminen muistuttaa biologisten vasta-aineiden ja antigeenien välistä spesifistä affiniteettia.[48] Molekyylijäljenteisiä polymeerejä hyödynnetään sensoreissa tunnistuskomponentteina tarjoten biologisten reseptorien spesifisyyden ja selektiivisyyden, minkä ansiosta ne soveltuvat käytettäväksi sensoreissa.[48] Käytettäessä luonnollisia reseptoreita tunnistuskomponentteina, vaativat ne tietyt olosuhteet, kuten lämpötilan, mutta MIP:t ovat helpommin säilytettäviä ja ne toimivat laajemmalla lämpötila-alueella.[48] Lisäksi MIP:t voidaan valmistaa lähes mille tahansa pienille molekyyleille, kun taas biologisten reseptorien saatavuus on rajallisempaa.[48]

Komposiitit ovat kahdesta tai useammasta materiaalista koostuva yhdistelmä, jossa eri materiaalit toimivat yhdessä paremman kokonaisuuden luomiseksi. Johtavat polymeerit soveltuvat hyvin sensoreihin sähkönjohtavuuden takia, mutta rajoitteina voivat olla bioyhteensopivuus ja prosessoitavuus.[49] Tästä syystä johtavista polymeereistä valmistetaan komposiitteja tai seoksia muiden polymeerien kanssa.[49] Polymeerinanokomposiitit (PNC, engl. polymer nanocomposites) koostuvat jatkuvasta polymeerimatriisista ja epäjatkuvasta faasista.[43] PNC-sensoreissa käytetään johtavia polymeerejä perusmateriaalina, ja ne luokitellaan sen perusteella, mihin materiaaliin polymeeri on yhdistetty.[43] Nämä jaetaan kolmeen eri luokkaan, jotka ovat nanomateriaalin, grafeenin sekä hiilinanoputkien yhdistelmät.[43] Sensoreissa komposiittien tuomia etuja ovat muun muassa paremmat elektrokatalyyttiset ominaisuudet ja elektrodin havaitsemiskyky.[43]

3.2 Johtavat polymeerit sensoreissa

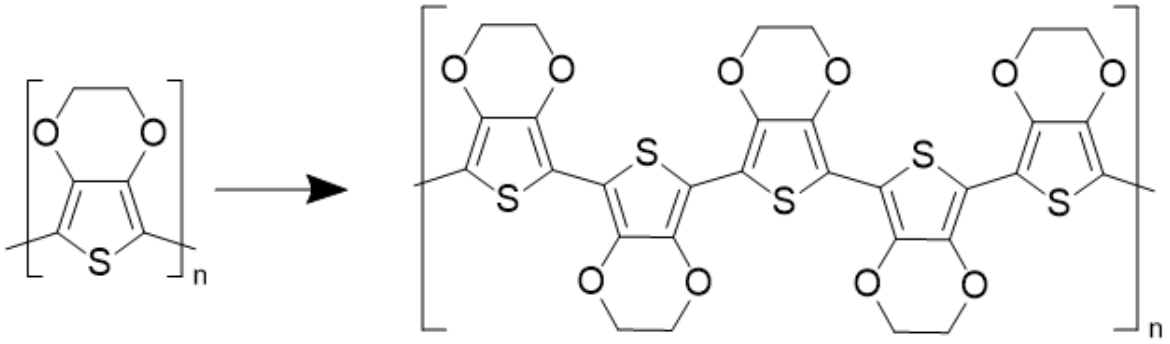
Johtavat polymeerit (CPs, engl. conducting polymers) eroavat muista polymeereistä sähkönjohtavien ominaisuuksien vuoksi, mikä tekee niistä kiinnostavia materiaaleja useissa sovelluksissa, kuten syöpädiagnostiikan biosensoreissa. Johtavat polymeerit sisältävät konjugoituneita rakenteita, joissa vuorottelevat sigma- ja piisidokset.[43] Ne valmistetaan joko oksidatiivisen tai elektrokemiallisen polymeroinnin kautta.[50] Oksidatiivinen polymerointi on käytetympi menetelmä paremman saannon takia, jonka lisäksi se on nopeampi ja halvempi synteesimenetelmä.[50] Johtavien polymeerien rakenteissa p-orbitaalit muodostuvat osittain päällekkäin, jolloin elektronien delokalisaatio on helpompaa polymeeriketjussa.[2] Delokalisoituneet, polarisoituneet ja elektronitiheät π-sidokset ovat syy sähköisiin ja optisiin ominaisuuksiin, sillä ne voivat siirtää ja kuljettaa sähkövarauksia.[50,51]

Johtavat polymeerit soveltuvat sensoreihin niiden sähköisten ja optisten ominaisuuksien, fysikaalisen ja kemiallisen vakauden, hyvän johtavuuden ja tehokkaiden redox-ominaisuuksien ansiosta.[16] Lisäksi ne yhdistävät hyvän lämmönkestävyyden ja bioyhteensopivuuden, mikä mahdollistaa sensorien käytön biologisissa ympäristöissä.[16] Ne voivat vaihdella johtavan ja eristävän tilan välillä, mikä parantaa sensoreiden spesifisyyttä, herkkyyttä ja uudelleenkäytettävyyttä.[16] Johtavat polymeerit ovat mekaanisesti joustavia, jonka takia ne soveltuvat ohuiksi pinnoitteiksi, kalvoiksi tai kuiduiksi.[50] Sen lisäksi johtavat polymeerit kuuluvat orgaanisiin polymeereihin, jolloin niillä on pienempi ympäristövaikutus.[50] Polymeerien suuri pinta-ala ja huokoisuus lisäävät sitoutumispintoja, joihin voidaan kiinnittää esimerkiksi tunnistuskomponentteja.[2] Lisäksi niiden kemiallinen muokattavuus mahdollistaa tunnistuskomponenttien kiinnittämisen useilla eri immobilisaatiomenetelmillä.[2] Hyvä sähkönjohtavuus mahdollistaa tehokkaan elektroninsiirron, mikä nopeuttaa signaalin muodostumista.[2] Johtavia ominaisuuksia on mahdollista tehostaa seostamisella, jossa lisätään seostusmolekyylejä tai -ioneja, jotka toimivat varauksenkuljettimina.[2,50] Johtavien polymeerien sähkönjohtaviin ominaisuuksiin vaikuttavat seostusmolekyylien tai ionien määrä, dopantin tyyppi sekä molekyylirakenne, mitkä parantavat sensorien johtavuusominaisuuksia, herkkyyttä ja vasteaikaa.[50]

Johtavina polymeereinä voidaan käyttää useita eri polymeerejä riippuen sensorin sovelluksesta.[52] Yleisimmin käytettyihin polymeereihin kuuluvat poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni) (PEDOT), polyaniliini (PANI), polytiofeeni (PTh), polypyrroli (PPy) tai polyasetyleeni (PA), sillä ne ovat pysyviä ja helppo syntetisoida.[16,52] Näitä voidaan käyttää useissa eri sensorisovelluksissa, kuten DNA-sensoreissa, jotka tunnistavat syöpäbiomarkkereita.[16,52] Usein sensoreissa ja bioelektroniikassa käytetään useita eri polymeerejä, jotka ovat lähes aina komposiitteja tai hybridirakenteita, jolloin eri sensorimateriaalit toimivat yhdessä ja muodostavat paremman toimivan kokonaisuuden. Seuraavissa kappaleissa käsitellään tarkemmin PEDOT- ja PPy-polymeerejä ja usein käytettyjä komposiitteja, joissa hyödynnetään PEDOT- ja PPy-polymeerejä.

3.2.1 PEDOT

PEDOT (poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni)) käytetään sen sähköisten ja kemiallisten ominaisuuksien takia. PEDOT on sähköä johtava materiaali, jolla on korkea stabiilisuus ja erinomainen elektrokatalyyttinen aktiivisuus useita analyyttejä kohtaan, minkä takia sillä on paljon käyttökohteita jo nyt eri teknologiatuotteissa, kuten antureissa ja näytöissä.[53,54] PEDOT kuuluu konjugoituneisiin polymeereihin (Kuva 5), eli sen sähkönjohtavat ominaisuudet perustuvat konjugoituneen rakenteen delokalisoituneisiin π-elektroneihin.[50] PEDOT-polymeerin lineaarisuuden ja jäykkyyden vuoksi varauksenkuljetus on tehokasta.[20] PEDOT-polymeerin sähkönjohtavuutta voidaan säätää, jotta se soveltuu sensoreihin käytettäväksi.[20] Liian korkea johtavuus voi kuitenkin heikentää sensorin suorituskykyä, sillä se johtaa alhaiseen signaali-kohinasuhteeseen, mikä vaikeuttaa muutosten havaitsemista mittauksissa.[20]



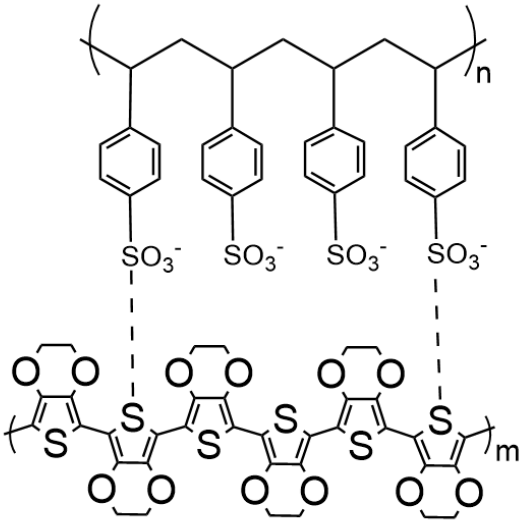
Kuva 5. PEDOT (poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni)) rakennekaava. PEDOT koostuu toistuvista 3,4-etyleenidioksitiofeeni-yksiköistä (EDOT) ja muodostaa konjugoidun rakenteen, jossa delokalisoituneet elektronit toimivat varauksenkuljettimina.[50]

PEDOT voidaan valmistaa useilla eri polymerointimenetelmillä, kuten *in situ* -kemiallisella polymeroinnilla (ICP), kemiallisella polymeroinnilla höyryfaasissa (VPP, engl. vapor-phase chemical polymerization), kemiallisella höyrysaostuksella (CVD, engl. chemical vapor deposition) ja sähkökemiallisella polymeroinnilla (EP).[53] Polymerointimenetelmää valitessa tulee kuitenkin ottaa huomioon, että menetelmä vaikuttaa merkittävästi PEDOT-kalvojen termoelektrisiin ominaisuuksiin.[53] PEDOT valmistetaan yleensä kemiallisella hapetusmenetelmällä, joka koostuu kolmesta vaiheesta.[53] Aluksi EDOT hapetetaan, jolloin muodostetaan kationinen radikaali, jonka jälkeen kaksi kationista radikaalia liittyvät toisiinsa muodostaen dimeerin.[53] Kolmannessa vaiheessa dimeerit hapetetaan ja polymeroidaan PEDOT-rakenteeksi.[53] ICP on yksinkertainen menetelmä, jossa EDOT-monomeerit ja hapetin sekoitetaan liuokseen.[53] Seos levitetään alustalle esimerkiksi spin coating -menetelmällä, jossa pieni määrä näytettä laitetaan alustan keskelle ja kierrosnopeuden kasvaessa seos leviää tasaiseksi pinnoitteeksi.[53] Kalvo hehkutetaan liuottimen poistamiseksi ja polymerointireaktion edistämiseksi, minkä jälkeen polymeroitu kalvo pestään ylimääräisen hapettimen poistamiseksi ja se lopuksi

kuivataan.[53] VPP-prosessissa hapetusliuos levitetään alustalle, jonka jälkeen alusta altistetaan EDOT-höyrylle.[53] Menetelmä edistää kiteisen rakenteen muodostumista, koska yksittäiset monomeerit polymeroituvat substraatilla alhaalta ylöspäin.[53] CVD-menetelmää käytetään EDOTin polymerointiin erilaisille alustoille, mikä tapahtuu CVD-kammiossa hapettimen ja monomeerin höyryjen kohdatessa kohdealustalla, jolloin reagoidessaan ne muodostavat PEDOT-kalvon.[53]

PEDOTin ominaisuuksiin kuuluvat hyvä stabiilisuus ja sähkönjohtavuus.[20] PEDOT-kalvojen sähkönjohtavuus voi olla yli 6000 S/cm ja yksittäisten PEDOT-nanolankojen yli 8700 S/cm.[47] PEDOTin sähkönjohtavat ominaisuudet ovat erityisen hyvät verrattuna muihin johtaviin polymeereihin.[47] Sen lisäksi sähkönjohtavia ominaisuuksia voidaan parantaa seostamisella. PEDOTin sähkönjohtaviin ominaisuuksiin ja stabiilisuuteen vaikuttavat useat tekijät, kuten synteesimenetelmät, lämpötila ja seostus.[55] Kuitenkin liian korkea johtavuus voi heikentää sensorin suorituskykyä, sillä se johtaa alhaiseen signaali-kohinasuhteeseen, mikä vaikeuttaa muutosten havaitsemista mittauksissa.[20]

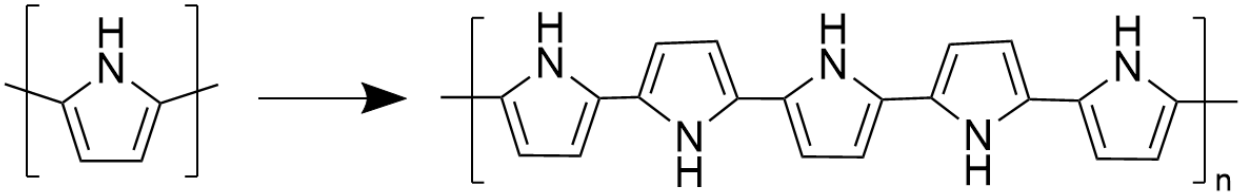
PEDOT:PSS (poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni): polystyreenisulfonaatti (Kuva 6) on läpinäkyvä ja sähköä johtava polymeeriseos, jossa PSS toimii dopanttina ja stabiloi PEDOTin rakennetta vesipohjaisissa ympäristöissä.[47] Yhdistelmä on helposti käsiteltävä ja se on sopiva biolääketieteellisiin sovelluksiin.[47] PEDOT:PSS on laajalti käytetty polymeeri orgaanisessa elektroniikassa, kuten elektrokemiallisissa ja kemiallisissa sensoreissa, sillä sen ominaisuuksiin kuuluvat hyvä liukoisuus ja prosessoituvuus, korkea ja säädettävä johtavuus, hyvä kemiallinen ja elektrokemiallinen stabiilisuus, optinen läpinäkyvyys ja bioyhteensopivuus.[20] Kun PEDOT polymeroidaan poly(4-styreenisulfonaatin) eli PSS:n kanssa, saadaan aikaan stabiili vesipohjainen dispersioliuos, joka sisältää PEDOT- ja PSS-polymeerejä, jonka käyttökohteisiin kuuluvat materiaalin orgaanisen elektroniikan sovellukset, kuten termoelektriset laitteet, aurinkokennot, superkondensaattorit ja sensorit.[20]



Kuva 6. PEDOT:PSS rakenne. PEDOT-ketjussa syntyy polymeroinnissa positiivisia varauksia, ja sulfonaattiryhmissä on negatiivinen varaus, jolloin varaukset reagoivat muodostaen stabiilin rakenteen.

3.2.2 Polypyrroli

Polypyrroli on yksi tutkituimmista johtavista polymeereistä ja sillä on merkittävä rooli elektrokemiallisissa sensoreissa.[56] Polypyrroli (Kuva 7) on aromaattinen molekyyli, jonka renkaassa on vetyatomi eli se on heterosyklinen. Se kuuluu konjugoituneisiin polymeereihin, joiden sähkönjohtavuus perustuu π-sidosten delokalisoituneiden elektronien rooliin toimia varauksen kuljettajina.[50] Polypyrrolin ominaisuudet riippuvat käytetystä synteesimenetelmästä ja dopantin tyypistä.[41]



Kuva 7. Polypyrrolin rakennekaava. Polypyrroli koostuu toistuvista pyrrolirenkaista, jonka konjugoituneessa systeemissä on delokalisoituneita elektroneja, jotka toimivat varauksenkuljettajina.[50]

Polypyrrolia valmistetaan pääasiassa elektrokemiallisella tai kemiallisella polymeroinnilla.[41] Polymerointi aiheutetaan elektrokemiallisesti anodisen virran, valoinduktion tai kemiallisesti hapettavien reagenssien avulla.[47] Elektrokemiallisen polymeroinnin avulla saadaan PPy saostettua suoraan elektrodin pinnalle ja menetelmää käytetään, kun halutaan säätää PPy-kerroksen paksuutta ja morfologiaa säätelemällä potentiaalia ja kontrolloitua virtaa elektrokemiallisessa kennossa.[41] Elektrokemiallisesti valmistetulla polypyrrolilla on hyvä sähkönjohtavuus.[41] Kemiallisilla menetelmillä on mahdollista valmistaa PPy-hiukkasia, joiden kokoa ja rakennetta voidaan hallita.[41] Kemiallinen polymerointi ei ole kovin tehokas menetelmä, kun tavoitteena on saada tasainen PPy-kerros sensoriin, sillä vain pieni osa polymeroinnissa syntyneistä PPy-molekyyleistä saadaan reaktioon osallistuvien materiaalien pinnalle.[41]

Polypyrrolin bioyhteensopivuus takaa sen, että sitä voidaan käyttää biologisten nesteiden, kuten plasman kanssa.[23,41] Sen lisäksi se soveltuu hyvin elektrokemiallisiin biosensoreihin, koska se säilyttää elektroaktiivisuutensa neutraalissa pH:ssa.[23] Tunnistuselementit immobilisoidaan polypyrrolin pintaan adsorptiolla tai kapseloinnilla.[23,41] Tällöin johtavan polymeerin funktionaaliset ryhmät reagoivat biomolekyylien funktionaalisten ryhmien kanssa, jotka ovat esimerkiksi karboksyylihapot (-COOH), hydroksyyliryhmät (-OH) tai aminoryhmät ($-NH_2$).[23] Kuitenkin puhtaaseen PPy-kalvoon kovalenttinen tunnistuskomponentin kiinnittäminen on haastavaa, sillä PPy-kalvon rakenteessa ei ole funktionaalisia ryhmiä, mutta ongelma voidaan ratkaista pinnan funktionalisointimenetelmillä.[23] Menetelmiä on useita, kuten PPy-kalvon nitraus ja sen pelkistäminen aminoryhmäksi, sekä UV-valon avulla indusoitu radikaalien liittäminen allyyliamiinilla tai akryylihapolla.[23] Suurin osa funktionalisointimenetelmistä on haastavia teknisesti ja se voi samalla vaikuttaa polymeerin johtavuuteen heikentävästi.[23]

Polypyrrolilla on erinomainen potentiaali käytännön sovelluksiin biolääketieteen alalla, ja se osoittaa yhteensopivuutta biologisille molekyyleille, kustannustehokkuutta, erinomaisia redox-ominaisuuksia, hyvää kemiallista ja ympäristöllistä stabiilisuutta.[46] Sen keskeisiä sovelluksia ovat useat biosensorit, kuten immunosensorit, DNA-sensorit, molekyylijäljenteisiin polymeereihin perustuvat affiniteettisensorit ja entsyymeihin perustuvat katalyyttiset sensorit.[41] Sen lisäksi polypyrrolia hyödynnetään muun muassa molekyylimuistiin perustuvissa laitteissa sekä hermoimplanttien valmistuksessa.[46] PPy kykenee moduloimaan elimistön solutoimintoja, mukaan lukien DNA:n muodostumisen, solujen tuotannon ja migraation biologisissa ympäristöissä.[46]

4 Polymeeripohjaisten sensorien vertailu ja tulevaisuus

Polymeeripohjaiset sensorit ovat nousseet keskeiseen asemaan biosensoreiden kehityksessä, sillä ne soveltuvat monipuolisesti erilaisiin sovelluksiin. Johtavien polymeerien käyttö parantaa sensoreiden toimintaa ja ominaisuuksia, sillä johtavat polymeerit voivat toimia sähköä johtavina materiaaleina, jolloin signaali voimistuu. Lisäksi niiden muokattavuus mahdollistaa biokomponenttien liittämisen polymeereihin kiinni tunnistuselementeiksi, jolloin voidaan suunnitella spesifisiä tunnistuselementtejä komplementaariseksi kohdebiomarkkerille. Sensoreiden toimintaan ja potentiaaliseen diagnostiseen kykyyn vaikuttavat useat tekijät, kuten sensorin tyyppi, käytetyt polymeerit sekä näiden yhteensopivuus. Sen lisäksi diagnostiikassa tulee ottaa huomioon, mitkä biomarkkerit soveltuvat luotettavasti käytettäväksi sensoreissa, sillä biomarkkerit vaikuttavat suoraan sensorin herkkyyteen ja tarkkuuteen.

4.1 Johtavien polymeerien vertailu

Johtavat polymeerit eroavat merkittävästi sähkönjohtavuuden, stabiilisuuden ja mekaanisten ominaisuuksien suhteen, mikä vaikuttaa niiden soveltuvuuteen syöpädiagnostiikan sensoreissa. Polymeerien tulee olla stabiileja ja kestää pitkäaikaista käyttöä, jotta ne soveltuvat käytettäväksi kliiniseen diagnostiikkaan. Johtavat polymeerit parantavat sensorin signaalintuottokykyä sähkönjohtavien ominaisuuksien takia, mikä mahdollistaa herkemmän ja nopeamman biomarkkerin tunnistuksen.[50] Yleisimmin sovelluksissa käytetyt johtavat polymeerit ovat PEDOT, PPy, PTh, PANI ja PA. Näistä PEDOT ja PPy ovat yleisimmin käytettyjä polymeerejä, sillä ne tarjoavat hyvän johtavuuden, stabiilisuuden ja prosessoitavuuden.[41,49]

PEDOTilla on erittäin hyvä sähkönjohtavuus (Taulukko 1), joka on huomattavasti korkeampi muihin polymeereihin verrattuna.[47] Sen lisäksi PEDOTilla on erinomainen stabiilisuus, joka tekee siitä soveltuvan materiaalin pitkäaikaisissa sensoreissa, joissa signaalin nopeus ja herkkyys ovat tärkeitä.[47] PEDOT on joustava ja mekaanisesti kestävä, mikä mahdollistaa sen käytön myös taipuvissa ja puettavissa sensoreissa.[20] Polypyrroli tarjoaa kohtuullisen johtavuuden ja hyvän lyhytaikaisen stabiilisuuden, mutta se on hauras erityisesti kuivana ja se reagoi helposti ympäristön kanssa.[49] PPy:n

etuna on kuitenkin sen helppo valmistaminen elektrolyyttisessä liuoksessa, ja pinnan muokattavuus, mikä tekee siitä kustannustehokkaan vaihtoehdon sensoreihin, joihin halutaan kiinnittää erilaisia tunnistuskomponentteja kiinni.[47,41]

PANI, PTh ja PA eroavat PPy:sta ja PEDOTista stabiilisuuden, johtavuuden ja rajoitusten osalta, minkä takia ne ovat vähemmän käytettyjä materiaaleja.[47,50,55,49] PANI on stabiili, kestävä ja halpa, jolla on useita rakenteellisia muotoja, mutta sen käsittely on vaikeaa ja liukoisuus rajoitettua, mikä rajoittaa sen kaupallista käyttöä.[49] PTh tarjoaa kohtalaisen johtavuuden ja stabiilisuuden, mutta sen käsitteleminen on haastavaa esimerkiksi jäykän polymeerirungon, hydrofobisuuden ja heikon liukoisuuden takia.[49,16] Polyasetyleeni (PA) puolestaan johtaa hyvin sähköä, mutta sen heikko stabiilisuus ja huono bioyhteensopivuus estävät sen käyttöä itsenäisenä sensorimateriaalina.[50,49]

PEDOT on erinomainen materiaalin pitkäaikaisiin ja herkkiin sensoreihin, kun taas PPy tarjoaa kustannustehokkaan ja helposti muokattavan vaihtoehdon, jossa biokomponenttien kiinnitys on tärkeää. Muut polymeerit soveltuvat sensoreihin vain rajoitetusti tai niitä voidaan hyödyntää esimerkiksi osana komposiitteja. Yhdistämällä eri materiaaleja voidaan vähentää yksittäisten johtavien polymeerien rajoituksia ja näin muodostaa ominaisuuksiltaan paremman materiaalin.

Taulukko 1. Keskeisten johtavien polymeerien ominaisuudet

Johtava polymeeri	Johtavuus S/cm	Stabiilisuus	Rajoitukset	Viitteet
PEDOT	Ohuissa kalvoissa >6200 yksikiteisissä nanolangoissa >8700	erinomainen	rajoittunut liukoisuus	47,55,49
PPy	>300	hyvä	jäykkä, hauras, liukenematon	47,49
PANI	>100	erinomainen	vaikea prosessoida, biohajoamaton, rajoittunut liukoisuus	47,50,49
PTh	>1000	hyvä	vaikea prosessoida	50,49
PA	>1000	heikko	heikko biokompatibiliteetti	50,49

4.2 Sensoreiden vertailu

DNA-sensorit ja immunosensorit eroavat toisistaan analyytin, vuorovaikutusmenetelmän ja havaintorajojen suhteen. DNA-sensoreissa hyödynnetään nukleiinihappoja, joissa kohdemolekyyli tunnistetaan muodon ja juosteen perusteella, jolloin menetelmä soveltuu useiden biomolekyylien tunnistamiseen.[18] DNA-sensoreilla on erittäin korkea spesifisyys, sillä DNA:n emäspariperiaatteen avulla jo yhden nukleotidin muutos tunnistetaan, jolloin ne soveltuvat erinomaisesti mutaatioiden tai geenimuutosten havaitsemiseen. DNA-sensorin pinnalle voidaan immobilisoida useita eri koettimia, mikä mahdollistaa esimerkiksi useiden BRCA1-mutaatioiden tunnistamisen samalla sensorilla.[37] Nukleiinihapoilla on lisäksi korkea sitoutumisaffiniteetti, synteesimenetelmät ovat yksinkertaisia ja sensoreiden säilytys on helppoa.[18] Kuitenkin herkkyydessä voi olla haasteita, jos hybridisaatio-olosuhteet, kuten pH tai lämpötila, eivät ole optimaaliset, sillä ne vaikuttavat vetysidosten muodostumiseen.[36] Lisäksi haasteita tuottavat korkeat taustasignaalit ja näytteen mahdollinen tuhoutuminen.[37]

Immunosensorit perustuvat antigeenin ja vasta-aineen väliseen sitoutumiseen, jossa sensorin vasta-aine valitaan kohdeantigeenin mukaan, jolloin sitoutuminen on spesifinen. Immunosensorit mahdollistavat immunoreaktioiden reaaliaikaisen seurannan suoraan detektoripinnalla lähes ilman reagensseja ja erotteluvaiheita, ja näin yksinkertaistaa analytiikkaa.[24,2] Immunosensoreiden käyttöön kuitenkin liittyy rajoituksia, sillä pienet kemialliset muutokset antigeenin rakenteessa voivat heikentää sen affiniteettia vasta-aineisiin, mikä vaikuttaa merkittävästi tuloksen luotettavuuteen.[21] Lisäksi immunosensorit ovat kalliita menetelmiä.[18]

Taulukossa 2 on koottu esimerkkejä elektrokemiallisista immuno- ja DNA-sensoreista, joilla on tunnistettu rintasyövän biomarkkereita CA15-3 ja BRCA1. DNA-sensorit pystyvät havaitsemaan erittäin pieniä pitoisuuksia, sillä DNA-sensoreiden havaintorajat (LOD, engl. limit of detection) ovat parhaillaan jopa 0,1 fM BRCA1:lle, kun sensorin materiaalina oli kultananopartikkelit ja käytössä oli Sandwich-menetelmä, jonka mittaukset suoritettiin syklisellä voltammetrialla ja amperometrialla.[30] Kuitenkin BRCA1:lle ei ole normaalia pitoisuutta plasmassa määritelty, joten sensorin kliinistä soveltuvuutta on vaikea arvioida, mutta kuitenkin korkean herkkyyden vuoksi DNA-sensorit pystyvät tunnistamaan BRCA1 jo hyvin pienistä pitoisuuksista, jolloin menetelmä on potentiaalinen vaihtoehto BRCA1 tunnistamiseen. Immunosensorin havaintorajat ovat parhaillaan 0,008 U/ml CA15-3:lle, kun käytössä ollut sensorin materiaali oli ioninesteellä funktionalisoitu pelkistetty grafeenioksidi ja käytettiin Sandwich-menetelmää. Kaikilla tarkastelussa olevilla immunosensoreilla saavutettiin kliinisesti relevantti havaintoraja, sillä CA15-3 normaalina pitoisuutena pidetään 0–30 U/ml ja sitä suuremmat pitoisuudet kertovat sairaudesta.[57] Tällöin jokainen vertailussa käytetty sensori on riittävän herkkä plasmasta löytyvän CA15-3 tunnistamiseen.

DNA-sensorit tarjoavat hyvän spesifisyyden ja herkkyyden, minkä ansiosta ne soveltuvat varhaiseen diagnostiikkaan. Vaikka BRCA1:n normaalia pitoisuutta plasmassa ei ole määritelty, DNA-

sensorin saavuttama 0,1 fM mahdollistaa mutaatioiden havaitsemisen hyvin pienistä pitoisuuksista. Immunosensorit soveltuvat CA15-3 havaitsemiseen, jonka avulla voidaan tehdä diagnoosi ja arvioida hoidon vastetta. Sensorityypin soveltuvuus diagnostiikkaan riippuu analyytistä, tarvittavasta herkkyydestä ja spesifisyydestä sekä kliinisestä tarkoituksesta. Jos tavoitteena on varhainen tunnistaminen, soveltuu DNA-sensori siihen käytettäväksi. Jos tarkoituksena on hoidon seuranta, soveltuu immunosensori siihen paremmin. Useiden eri sensorityyppien yhdistäminen voi vähentää virheellisten ja epätarkkojen tulosten määrää, mikä tekee sensoreista potentiaalisen diagnostisen menetelmän muiden syövän diagnostiikkamenetelmien ohelle.

Taulukko 2. Elektrokemiallisten immuno- ja DNA-sensoreiden vertailu BRCA1 ja CA15-3 havaitsemisessa

Sensori	Menetelmä	Materiaali	Analyytti	Havaintoraja (LOD)	Viitteet
Immunosensori	Sandwich, voltammetria	Kultananopartikkelit	CA15-3	5,0 U/ml	[32]
Immunosensori	Differentiaalipulssivoltammetria (DPV) entsyymitön	Pelkistetty grafeenioksidi (RGO) ja kuparisulfaatti (CuS) - komposiitti	CA15-3	0,03 U/ml	[57]
Immunosensori	Sandwich, differentiaalipulssivoltammetria (DPV)	TiO_2 nanopartikkelit	CA15-3	0,3 U/ml	[57,58]
Immunosensori	Elektrokemiluminesenssi	Huokoinen ZnO	CA15-3	0,014 U/ml	[57,59]
Immunosensori	Sandwich	Ioninesteellä funktionalisoitu pelkistetty grafeenioksidi (engl. IL functionalized reduced graphene oxide)	CA15-3	0,008 U/ml	[57,60]
DNA-sensori	Differentiaalivoltammetria (DPV)	PEDOT	BRCA1	0,0034 pM	[11]
DNA-sensori	Sandwich, syklinen voltammetria (CV), amperometria	AuNPs	BRCA1	0,1 fM	[30]
DNA-sensori	Label free, elektrokemiallinen impedanssispektroskopia (EIS)	$[Fe(CN)_6]_4^{-3}$	BRCA1	0,15 nM	[61]
DNA-sensori	Sandwich, sähkökemiallinen kvartsikide-mikrotasapainotekniikka (EQCM, engl. electrochemical quartz crystal microbalance)	AuNPs	BRCA1	1 fM	[62]

4.3 Tulevaisuus

Sensoreiden kansainvälisen markkinan on ennustettu kasvavan merkittävästi maailmanlaajuisesti 26,9 miljardista dollarista jopa 49,8 miljardiin dollariin vuoteen 2030 mennessä.[47] Sensoriteknologian kehityksen ansiosta tutkimus ja kaupallinen käyttö lisääntyy, mikä voi tuoda merkittäviä säästöjä. Syövän varhainen tunnistaminen pienentää hoitokustannuksia, sillä aikainen diagnoosi mahdollistaa vähemmän resursseja vaativaa hoitoa.[56] Koska keskimääräiset hoitokustannukset kasvavat usein diagnoosivaiheen edetessä, varhainen diagnostiikka on keskeistä sekä kustannustehokkuuden että hoidon onnistumisen kannalta.[56]

Elektrokemialliset sensorit ovat lupaavia diagnostisia menetelmiä, mutta suurimmat haasteet liittyvät kliiniseen soveltuvuuteen. Ennen käyttöönottoa on kehitettävä sensorin selektiivisyyttä monimutkaisissa näytematriiseissa, miniatyrisoitava laite implantoitaviin sovelluksiin sekä saada täytettyä sääntelyyn liittyvät vaatimukset.[25] Kehon nesteet sisältävät proteiineja, aineenvaihduntatuotteita, suoloja ja soluja, jotka vaikuttavat signaalitasoihin. Lisäksi proteiinien epäspesifinen adsorptio seeruminäytteessä tai muissa monimutkaisissa väliaineissa voi tuottaa suuren taustasignaalin ja heikentää menetelmän tarkkuutta ja toistettavuutta.[11,25] Ennen sensoreiden käyttöönottoa tulee kehittää datan analysoinnin integrointia ja biomarkkereiden vaihtelun hallintaa.[25] Biologisten näytteiden monimutkaisuuden vuoksi virheellisten tulosten määrää voidaan pienentää käyttämällä useampaa biomarkkeria diagnostiikassa.[2]

Johtavilla polymeereillä on jo tällä hetkellä huomattava potentiaali sensoreissa niiden ominaisuuksien vuoksi, mutta suorituskyvyn optimointi voi parantaa herkkyyttä, valikoivuutta ja kestävyyttä.[16] Lupaavia keinoja polymeerien suorituskyvyn parantamiseksi on esimerkiksi nanorakenteistaminen, sillä nanokoossa olevilla aineilla on suurempi pinta-ala, mikä parantaa analyytin vuorovaikutusta ja edistää elektronien siirtymistä.[14] Lisäksi polymeerien seostus parantaa materiaalin rakennetta ja toimintaa.[50] Kun polymeereissä on enemmän ioneja tai molekyylejä, materiaali johtaa sähköä paremmin, mikä vahvistaa biomarkkerin ja polymeerin välisestä vuorovaikutuksesta syntyvää signaalia ja parantaa sensorin herkkyyttä.[50]

Mikäli sensoreiden haasteet ratkaistaan, on mahdollista saada tehokas, lupaava ja nopea menetelmä syövän diagnostiikkaan, hoidon vasteen seurantaan ja ennusteen arviointiin. Sensoreiden kaupallistaminen voi tuoda merkittävästi hyötyjä yhteiskunnalle ja terveydenhuoltojärjestelmälle. Varhaisen diagnostiikan yleistyessä voidaan merkittävästi parantaa potilaiden ennusteita, jolloin hoitokustannuksia voidaan vähentää sekä minimoida terveydenhoitoon kohdistuvaa kuormitusta.[9] Lisäksi sensorit voivat nopeuttaa diagnosointiprosessia ja tehdä siitä kustannustehokkaampaa.[9]

5 Yhteenveto ja johtopäätökset

Johtavat polymeerit ovat keskeisessä asemassa syöpädiagnostiikassa käytettävissä elektrokemiallisissa sensoreissa korkean herkkyyden ja spesifisyyden takia. Monimuotoisuus, hyvät sähköiset ominaisuudet ja muokattavuus tekevät niistä erittäin kiinnostavia materiaaleja sensorisovelluksiin.[2] Konjugoituneen rakenteen takia ne parantavat sensorien herkkyyttä, spesifisyyttä ja uudelleenkäytettävyyttä.[2] Polymeerien etuihin kuuluvat helppo muokattavuus, halpa hinta, sekä niistä saadaan helposti valmistettua halutunlaisia sensoreita liittämällä biomarkkerille spesifinen tunnistuselementti.[2]

DNA-sensorin käyttö BRCA1:n tunnistuksessa on potentiaalinen menetelmä rintasyövän diagnostiikassa, sillä BRCA1 on yksi merkittävimmistä perinnölliseen rintasyöpään liittyvistä biomarkkereista.[11,27,28] Sen mutaatiot lisäävät merkittävästi yksilön riskiä sairastua rinta- ja munasarjasyöpään.[11,27,28] DNA-sensorit mahdollistavat BRCA1-mutaatioiden spesifisen ja herkän tunnistamisen ja menetelmällä on jo saatu lupaavia tuloksia.[11] BRCA1:n havaitseminen DNA-sensorilla mahdollistaa rintasyövän riskiryhmien seulonnan, mikä edistää rintasyövän ennaltaehkäisyä. CA15-3 soveltuu etenkin III ja IV levinneisyysasteiden syövän hoidon vasteen seurantaan. CA15-3-biomarkkerin konsentraatio on vain noin 10 % koholla I ja II levinneisyysasteiden syövissä, jolloin biomarkkeri ei sovellu varhaiseen diagnostiikkaan.[10] CA15-3 varhainen havaitseminen edellyttäisi elektrokemiallisten sensoreiden herkkyyden parantamista pienten konsentraatioerojen tunnistamiseen.[10] Immunosensoreita pitää kehittää vielä etenkin soveltuvaksi biologisiin ympäristöihin.[10]

Sensoreilla tulevaisuudessa on mahdollista kehittyä kilpailukykyiseksi kaupalliseksi diagnostiikkamenetelmäksi, mutta tämä vaatii kuitenkin vielä paljon tutkimusta ja sensoreiden kehittämistä entistä paremmiksi. Johdepolymeeripohjaisten elektrokemiallisten sensoreiden suorituskykyä voidaan parantaa useilla eri menetelmillä, mutta yksi tärkeimmistä menetelmistä on nanorakenteistaminen.[16] Se lisää polymeerin pinta-alaa, parantaa analyytin vuorovaikutusta ja tehostaa elektroninsiirtoa, mikä johtaa signaalin vahvistumiseen.[16] Sen lisäksi komposiittien käyttö parantaa johtavien polymeerien ominaisuuksia yhdistämällä materiaaleja paremman kokonaisuuden luomiseksi. Materiaalien seostus lisää varauksenkuljettajien määrää systeemissä, mikä tehostaa signaalin syntymistä ja parantaa sensorin herkkyyttä.

Tulevaisuudessa sensoreiden kehittämisessä keskeistä on parantaa erityisesti herkkyyttä, selektiivisyyttä, vakautta ja käytettävyyttä, jotta ne soveltuvat monimutkaisiin näytematriiseihin. Sensoreiden avulla on mahdollista keventää julkisen terveydenhuollon kuormitusta tarjoamalla kustannustehokkaita, nopeita ja tarkkoja diagnoosimenetelmiä diagnostiikkaan. Mikäli edellä mainitut tekniset ja biologiset haasteet pystytään ratkaisemaan, voidaan sensoreita hyödyntää muiden menetelmien ohella, mikä voi merkittävästi parantaa syövän diagnostiikkaa ja edistää terveyttä sekä yksilö- että väestötasolla.

Viitteet

1. Pulumati A, Pulumati A, Dwarakanath BS, Verma A, Papineni RVL. Technological advancements in cancer diagnostics: Improvements and limitations. *Cancer Rep*. 2023;6(2):e1764. doi:10.1002/cnr2.1764
2. Kappen J, Skorupa M, Krukiewicz K. Conducting Polymers as Versatile Tools for the Electrochemical Detection of Cancer Biomarkers. *Biosensors*. 2023; 13(1):31. doi:10.3390/bios13010031
3. Marrugo-Ramírez J, Mir M, Samitier J. Blood-Based Cancer Biomarkers in Liquid Biopsy: A Promising Non-Invasive Alternative to Tissue Biopsy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19(10):2877. doi:10.3390/ijms19102877
4. Stetter JR, Penrose WR, Yao S. Sensors, Chemical Sensors, Electrochemical Sensors, and ECS. *J Electrochem Soc*. 2003;150(2):S11. doi:10.1149/1.1539051
5. Piñeros M, Mery L, Soerjomataram I, Bray F, Steliarova-Foucher E. Scaling Up the Surveillance of Childhood Cancer: A Global Roadmap. *J Natl Cancer Inst*. 2021;113(1):9-15. doi:10.1093/jnci/djaa069
6. Emanuelle Pereira Santos V, Luiz de França Neto P, Eda de Oliveira Isídio B, et al. An overview about biomarkers in breast cancer: Insights into the diagnostic and prognostic significance. *Clin Chim Acta*. 2025;567:120030. doi:10.1016/j.cca.2024.120030
7. Arnold M, Morgan E, Rumgay H, et al. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast*. 2022;66:15-23. doi:10.1016/j.breast.2022.08.010
8. Robert J. Signalisation cellulaire et cancer. *Bull Cancer*. 2010;97(11):1215-1222. doi:10.1684/bdc.2010.1199
9. Aden D, Zaheer S, Raj S. Challenges faced in the cancer diagnosis and management-COVID-19 pandemic and beyond-Lessons for future. *Heliyon*. 2022;8(12):e12091. doi:10.1016/j.heliyon.2022.e12091
10. Duffy MJ, Evoy D, McDermott EW. CA 15-3: Uses and limitation as a biomarker for breast cancer. *Clinica Chimica Acta*. 2010;411(23-24):1869-1874. doi:10.1016/j.cca.2010.08.039
11. Wang J, Wang D, Hui N. A low fouling electrochemical biosensor based on the zwitterionic polypeptide doped conducting polymer PEDOT for breast cancer marker BRCA1 detection. *Bioelectrochemistry*. 2020;136:107595. doi:10.1016/j.bioelechem.2020.107595
12. Passaro A, Al Bakir M, Hamilton EG, et al. Cancer biomarkers: Emerging trends and clinical implications for personalized treatment. *Cell.* 2024;187(7):1617-1635. doi:10.1016/j.cell.2024.02.041
13. Wang L. Early Diagnosis of Breast Cancer. *Sensors*. 2017; 17(7):1572. doi:10.3390/s17071572

14. Shrivastava S, Jadon N, Jain R. Next-generation polymer nanocomposite-based electrochemical sensors and biosensors: A review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 2016;82:55-67. doi:10.1016/j.trac.2016.04.005
15. Karasu T, Armutcu C, Elkhoury K, Özgür E, Maziz A, Uzun L. Conducting polymers as a functional recognition interface to design sensors for pathogen and cancer diagnosis. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry.* 2024;175:117705 doi:10.1016/j.trac.2024.117705
16. Dube A, Malode SJ, Alodhayb AN, Mondal K, Shetti NP. Conducting polymer-based electrochemical sensors: Progress, challenges, and future perspectives. *Talanta Open*. 2025;11:100395. doi:10.1016/j.talo.2024.100395
17. Duncan JA, Reeves JR, Cooke TG. *BRCA1 and BRCA2 Proteins: Roles in Health and Disease*. 1998;51(5):237-47. doi:10.1136/mp.51.5.237
18. Tavakoli J, Tang Y. Hydrogel Based Sensors for Biomedical Applications: An Updated Review. *Polymers*. 2017; 9(8):364. doi:10.3390/polym9080364
19. Cho IH, Lee J, Kim J, et al. Current technologies of electrochemical immunosensors: Perspective on signal amplification. *Sensors.* 2018;18(1):207. doi:10.3390/s18010207
20. Gao N, Yu J, Tian Q, Shi J, Zhang M, Chen S, Zang L. Application of PEDOT:PSS and Its Composites in Electrochemical and Electronic Chemosensors. *Chemosensors*. 2021; 9(4):79. doi:10.3390/chemosensors9040079
21. Felix FS, Angnes L. Electrochemical immunosensors – A powerful tool for analytical applications. *Biosens Bioelectron*. 2018;102:470-478. doi:10.1016/j.bios.2017.11.029
22. Adhikari B, Majumdar S. Polymers in sensor applications. *Progress in Polymer Science*. 2004;29(7):699-766. doi:10.1016/j.progpolymsci.2004.03.002
23. Nguyen VA, Nguyen HL, Nguyen DT, Do QP, Tran LD. Electrosynthesized poly(1,5-diaminonaphthalene)/polypyrrole nanowires bilayer as an immunosensor platform for breast cancer biomarker CA 15-3. *Current Applied Physics*. 2017;17(11):1422-1429. doi:10.1016/j.cap.2017.08.002
24. Wu J, Fu Z, Yan F, Ju H. Biomedical and clinical applications of immunoassays and immunosensors for tumor markers. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 2007;26(7):679-688. doi:10.1016/j.trac.2007.05.007
25. Fu L, Karimi-Maleh H. Leveraging electrochemical sensors to improve efficiency of cancer detection. *World J Clin Oncol*. 2024;15(3):360-366. doi:10.5306/wjco.v15.i3.360
26. Topkaya SN, Azimzadeh M, Ozsoz M. Electrochemical Biosensors for Cancer Biomarkers Detection: Recent Advances and Challenges. *Electroanalysis*. 2016;28(7):1402-1419. doi:10.1002/elan.201501174
27. Das S, Dey MK, Devireddy R, Gartia MR. Biomarkers in Cancer Detection, Diagnosis, and Prognosis. *Sensors.Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. 2024;24(1):37. doi:10.3390/s24010037

28. Ain Q, O'Connell RL, Swarnkar P, et al. Breast cancer outcomes in women with ovarian cancer and a pathogenic germline BRCA mutation. *European Journal of Surgical Oncology*. 2025;51(3):109380. doi:10.1016/j.ejso.2024.109380
29. Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM. *Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer*.; 1998. PMID: 20301425
30. Feng D, Su J, He G, Xu Y, Wang C, Zheng M, Qian Q, Mi X. Electrochemical DNA Sensor for Sensitive BRCA1 Detection Based on DNA Tetrahedral-Structured Probe and Poly-Adenine Mediated Gold Nanoparticles. *Biosensors*. 2020; 10(7):78. doi:10.3390/bios10070078
31. Sharma S, Raghav R, O'Kennedy R, Srivastava S. Advances in ovarian cancer diagnosis: A journey from immunoassays to immunosensors. *Enzyme Microb Technol.Elsevier Inc.* 2016;89:15-30. doi:10.1016/j.enzmictec.2016.03.002
32. Marques RCB, Costa-Rama E, Viswanathan S, et al. Voltammetric immunosensor for the simultaneous analysis of the breast cancer biomarkers CA 15-3 and HER2-ECD. *Sens Actuators B Chem*. 2018;255:918-925. doi:10.1016/j.snb.2017.08.107
33. Rebelo TSCR, Ribeiro JA, Sales MGF, Pereira CM. Electrochemical immunosensor for detection of CA 15-3 biomarker in point-of-care. *Sens Biosensing Res*. 2021;33:100445. doi:10.1016/j.sbsr.2021.100445
34. Tothill IE. Biosensors for cancer markers diagnosis. *Semin Cell Dev Biol*. 2009;20(1):55-62. doi:10.1016/j.semcdb.2009.01.015
35. Wei F, Patel P, Liao W, et al. Electrochemical sensor for multiplex biomarkers detection. *Clinical Cancer Research*. 2009;15(13):4446-4452. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0050
36. Campàs i Homs M. DNA sensors. *Anal Lett*. 2002;35(12):1875-1894. doi:10.1081/AL-120014280
37. Drummond TG, Hill MG, Barton JK. Electrochemical DNA sensors. *Nat Biotechnol*. 2003;21(10):1192-1199. doi:10.1038/nbt873
38. Lin Q, Wu J, Liu L, Wu W, Fang X, Kong J. Sandwich/competitive immuno-sensors on micro-interface for SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. *Anal Chim Acta*. 2021;1187:339144. doi:10.1016/j.aca.2021.339144
39. Mattox AK, Douville C, Wang Y, et al. The Origin of Highly Elevated Cell-Free DNA in Healthy Individuals and Patients with Pancreatic, Colorectal, Lung, or Ovarian Cancer. *Cancer Discov*. 2023;13(10):2166-2179. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-1252
40. Shahrokhian S, Salimian R. Ultrasensitive detection of cancer biomarkers using conducting polymer/electrochemically reduced graphene oxide-based biosensor: Application toward BRCA1 sensing. *Sens Actuators B Chem*. 2018;266:160-169. doi:10.1016/j.snb.2018.03.120
41. Ramanavičius A, Ramanavičiene A, Malinauskas A. Electrochemical sensors based on conducting polymer-polypyrrole. *Electrochim Acta*. 2006;51(27):6025-6037. doi:10.1016/j.electacta.2005.11.052

42. Sperling LH. Introduction to physical polymer science fourth edition John *Wiley & Sons*; 2005:827-845. doi:10.1002/0471757128
43. Alberti G, Zanoni C, Losi V, Magnaghi LR, Biesuz R. Current trends in polymer based sensors. *Chemosensors*. 2021;9(5):108. doi:10.3390/chemosensors9050108
44. Alam MW, Bhat SI, Al Qahtani HS, et al. Recent Progress, Challenges, and Trends in Polymer-Based Sensors: A Review. *Polymers.* 2022;14(11):2164. doi:10.3390/polym14112164
45. Regasa MB, Refera Soreta T, Femi OE, Ramamurthy PC. Development of Molecularly Imprinted Conducting Polymer Composite Film-Based Electrochemical Sensor for Melamine Detection in Infant Formula. *ACS Omega*. 2020;5(8):4090-4099. doi:10.1021/acsomega.9b03747
46. Raza S, Li X, Soyekwo F, Liao D, Xiang Y, Liu C. A comprehensive overview of common conducting polymer-based nanocomposites; Recent advances in design and applications. *Eur Polym J*. 2021;160:110773. doi:10.1016/j.eurpolymj.2021.110773
47. Gamboa J, Paulo-Mirasol S, Estrany F, Torras J. Recent Progress in Biomedical Sensors Based on Conducting Polymer Hydrogels. *ACS Appl Bio Mater*. 2023;6(5):1720-1741. doi:10.1021/acsabm.3c00139
48. Belbruno JJ. Molecularly Imprinted Polymers. *Chem Rev*. 2019;119(1):94-119. doi:10.1021/acs.chemrev.8b00171
49. Kaur G, Adhikari R, Cass P, Bown M, Gunatillake P. Electrically conductive polymers and composites for biomedical applications. *RSC Adv*. 2015;5(47):37553-37567. doi:10.1039/c5ra01851j
50. Goyal M, Singh K, Bhatnagar N. Conductive polymers: A multipurpose material for protecting coating. *Prog Org Coat*. 2024;187:108083. doi:10.1016/j.porgcoat.2023.108083
51. Saxena V, Kumar N, Saxena VK. A comprehensive review on combustion and stability aspects of metal nanoparticles and its additive effect on diesel and biodiesel fuelled C.I. engine. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2017;70:563-588. doi:10.1016/j.rser.2016.11.067
52. Lakard B. Electrochemical biosensors based on conducting polymers: A review. *Applied Sciences* 2020;10(18):6614. doi:10.3390/APP10186614
53. Xu Y, Jia Y, Liu P, Jiang Q, Hu D, Ma Y. Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) as promising thermoelectric materials and devices. *Chemical Engineering Journal*. 2021;404:126552. doi:10.1016/j.cej.2020.126552
54. Omar FS, Duraisamy N, Ramesh K, Ramesh S. Conducting polymer and its composite materials based electrochemical sensor for Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH). *Biosens Bioelectron*. 2016;79:763-775. doi:10.1016/j.bios.2016.01.013
55. Nie S, Li Z, Yao Y, Jin Y. Progress in Synthesis of Conductive Polymer Poly(3,4-Ethylenedioxythiophene). *Front Chem*. 2021;9:803509. doi:10.3389/fchem.2021.803509

56. McGarvey N, Gitlin M, Fadli E, Chung KC. Increased healthcare costs by later stage cancer diagnosis. *BMC Health Serv Res*. 2022;22:1155. doi:10.1186/s12913-022-08457-6
57. Amani J, Khoshroo A, Rahimi-Nasrabadi M. Electrochemical immunosensor for the breast cancer marker CA 15–3 based on the catalytic activity of a CuS/reduced graphene oxide nanocomposite towards the electrooxidation of catechol. *Microchimica Acta*. 2017;185(1):79. doi:10.1007/s00604-017-2532-5
58. Wang G, Qing Y, Shan J, Jin F, Yuan R, Wang D. Cation-exchange antibody labeling for simultaneous electrochemical detection of tumor markers CA15-3 and CA19-9. *Microchimica Acta*. 2013;180. doi:10.1007/s00604-013-0973-z
59. Zhang L, He Y, Wang H, Yuan Y, Yuan R, Chai Y. A self-enhanced electrochemiluminescence immunosensor based on l-Lys-Ru(dcbpy)32+ functionalized porous six arrises column nanorods for detection of CA15-3. *Biosens Bioelectron*. 2015;74:924-930. doi:10.1016/j.bios.2015.07.044
60. Zhao L, Wei Q, Wu H, Dou J, Li H. Ionic liquid functionalized graphene based immunosensor for sensitive detection of carbohydrate antigen 15-3 integrated with Cd2+-functionalized nanoporous TiO2 as labels. *Biosens Bioelectron*. 2014;59:75-80. doi:10.1016/j.bios.2014.03.006
61. Ribovski L, Zucolotto V, Janegitz BC. A label-free electrochemical DNA sensor to identify breast cancer susceptibility. *Microchemical Journal*. 2017;133:37-42. doi:10.1016/j.microc.2017.03.011
62. Rasheed PA, Sandhyarani N. Femtomolar level detection of BRCA1 gene using a gold nanoparticle labeled sandwich type DNA sensor. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014;117:7-13. doi:10.1016/j.colsurfb.2014.02.009