پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال بیستم، شماره ۴، پی‌درپی ۱۰۶، صفحات ۲۰۶ تا ۲۱۲
مهر و آبان ۱۳۹۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۵/۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۷/۱۸

بررسی تأثیر روش‌های یدوژن و کلروآمین-T در نشاندار نمودن آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-5 با ید-۱۲۵ در کیت اندازه‌گیری آنتی‌ژن ویژه پروستات در سرم خون مردان جهت تشخیص بیماری‌های پروستات

هاله فروتن[۱]، مرضیه خدابخش*[۲]، لادن پورعبدی[۳]*

۱. آزمایشگاه ترکیبات برون تنی، گروه رادیوداروها، پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم وفنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به اهمیت تشخیص به موقع و سریع بیماری‌های پروستات، تهیه کیتی جهت اندازه‌گیری آنتی‌ژن ویژه‌ی پروستات (PSA) در خون، از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف اصلی این پژوهش، امکان سنجی و بررسی نشاندارسازی آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-5 با ید-۱۲۵ به عنوان یکی از اجزای اصلی کیت‌های تشخیصی ایمونورادیومتریک (IRMA) آنالیز PSA بوده که پس از بهینه کردن شرایط جهت صحه‌گذاری در مقایسه با کیت استاندارد خارجی، نتایج مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، پس از نشاندار کردن آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-5 با ید-۱۲۵ با دو روش و بررسی عوامل مؤثر در فرآیند نشاندارسازی و کارایی آنالیتیکی کیت، بهترین شرایط انتخاب و سپس ۳۰ نمونه سرم خون مردان با اندیکاسیون آزمون پروستات با مقایسه با کیت مرجع خارجی، مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: این بررسی نشان داد که با توجه به شرایط بهینه مؤثر، آنتی‌بادی مورد نظر نشاندار با ید-۱۲۵ با روش کلروآمین-T کارایی بیشتری نسبت به روش یدوژن دارد. در اندازه‌گیری میزان PSA، ضریب همبستگی ۰/۹۹۳ مربوط به هم‌ترازی دو کیت داخلی و مرجع خارجی به‌دست آمد که نشان می‌دهد اختلاف معناداری از نظر آماری نداشته و همچنین به مدت یک ماه پایدار می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها به نظر می‌رسد که تولید آنتی‌بادی نشاندار با روش کلروآمین-T مقدور و قادر به رقابت با کیت مرجع خارجی می‌باشد. در ادامه‌ی این کار تحقیقاتی، مطالعات بالینی جهت مقایسه‌ی نتایج به‌دست آمده از کیت با بیماری‌های پروستات به منظور ارزیابی تکمیلی کیت، توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: آنتی‌ژن ویژه پروستات، روش رادیو ایمونواسی، یدیناسیون، کیت ایمونورادیومتریک، بیماری پروستات

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Foroutan H, Khodabakhsh M, Pourabdi L. Study of preparation of labeled monoclonal antibody SPRN-5 with Iodine-125 and its efficiency in prostate specific antigen assay for prostate disease diagnosis. Pejouhandeh 2015;20(4):206-212.

مقدمه

در سال‌های اخیر، سرطان پروستات به عنوان دومین سرطان شایع پس از سرطان ریه در مردان گزارش شده است. اطلاعات آماری و علایم بالینی، میزان رو به رشد مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات را نشان می‌دهند (۱). آنتی‌ژن ویژه پروستات (PSA)، یک گلیکوپروتئین تک زنجیره‌ای و آنزیم متعلق به گروه Kallikerin با وزن مولکولی ۳۳ کیلو دالتون است و عملکرد اصلی فیزیولوژیکی آن، مایع کردن سمینال خروجی از منی انسان است و عمده‌ترین پروتئین در مایع سمینال محسوب می‌شود. PSA فقط در سلول‌های اپی‌تلیال ساخته شده و مقادیر ناچیزی از آن به داخل جریان خون نفوذ می‌کند (۳،۲). مطالعات نشان می‌دهد که مولکول PSA همراه با IgM در روند تهیه‌ی کمپلکس‌های ایمنی موجود می‌باشد که به نظر می‌رسد از نظر فعالیت بیولوژیکی، وجود IgM می‌تواند به‌طور انتخابی مولکول PSA را به صورت گلیکوایزوفرمی تشخیص دهد. معاینات کلینیکی جهت تشخیص سرطان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و از آنجایی‌که میزان

*نویسندگان مسؤول مکاتبات: هاله فروتن، مرضیه خدابخش؛ آزمایشگاه ترکیبات برون تنی ، گروه رادیوداروها ، پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم وفنون هسته ای ،سازمان انرژی اتمی؛ تهران، صندوق پستی ۳۴۸۶-۱۱۳۶۵؛ تلفن: ۸۸۲۲۱۲۲۲ (۰۲۱)؛ نمابر: ۸۸۲۲۱۲۱۹ (۰۲۱)؛ پست الکترونیک: mkhodabakhsh@aeoi.org.ir ،hforoutan@aeoi.org.ir

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

آنتی‌ژن‌های تومور مارکری به عوامل ایمنی مختلفی بستگی دارد (۴)، بر اساس مطالعات به عمل آمده MISCAN (Microsimulation Screening Analysis) جهت پیش‌بینی تعداد مبتلایان به سرطان، افراد تحت درمان و میزان مرگ و میر ناشی از سرطان و طول عمر مبتلایان، از اندازه‌گیری میزان PSA به عنوان شاخص استفاده شده است (۵). با توجه به این‌که تومورهای سرطانی آنتی‌ژن‌های مشخصی را تولید می‌کنند، معمولاً از طریق آزمایش خون تعیین می‌شوند. در سرطان پروستات، میزان غلظت این آنتی‌ژن اختصاصی در خون افزایش یافته و نشانگر خوبی جهت تشخیص سرطان پروستات می‌باشد. البته تنها سطح PSA در آزمایش خون فرد، نمایانگر ابتلا به سرطان پروستات نیست. در برخی از موارد، عفونت و یا بزرگی خوش‌خیم (افزایش حجم غده‌ی پروستات) نیز می‌تواند سبب افزایش میزان PSA در خون شود. به همین جهت، تعیین میزان آنتی‌ژن PSA به عنوان یک تومور مارکر (شاخص بیولوژیکی) در کنار روش‌های تشخیصی دیگر می‌تواند در معالجه و یا ادامه‌ی درمان بیماری، کمک مؤثری باشد (۷،۶).

جهت تعیین غلظت PSA در خون از روش‌های مختلفی مانند روش‌های ایمونولوژیکی آنزیمی (Enzymimmuno Assay)، روش سنجش ایمونولوژیکی رادیوایزوتوپی یا ایمونورادیومتریک اسی (Radioimmuno Assay, IRMA)، روش سنجش ایمونولوژیکی لومینسانس (Luminescence Assay) استفاده می‌شود (۸). به طور معمول، تعیین غلظت کلی PSA در سرم خون در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی با استفاده از روش IRMA صورت می‌گیرد. یکی از اجزای مهم کیت‌های (IRMA) آنتی‌بادی مونوکلونال نشاندار شده با ید-۱۲۵ به عنوان عامل نشاندار در واکنش ساندویچی با جفت آنتی‌بادی مونوکلونال پوشش داده شده بر سطح پلیمری می‌باشد. در نشاندارسازی آنتی‌بادی‌ها با ید رادیواکتیو می‌توان از اکسیدان‌هایی مانند کلروآمین-T (نمک سدیم n-کلرو-۴-متیل بنزن سولفون آمید)، یدوژن، یدین مونوکلراید، لاکتوپراکسید استفاده نمود. روش‌های کلروآمین-T و یدوژن به طور معمول جهت یدیناسیون پروتئین‌ها به کار برده می‌شوند (۱۰،۹).

در این پژوهش، ابتدا نشاندارسازی آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-5 با ید-۱۲۵ توسط دو روش کلروآمین-T و یدوژن در آزمایشگاه پژوهشکده کاربرد پرتوها امکان‌سنجی شد. سپس تأثیر عوامل مختلف از قبیل نسبت آنتی‌بادی به میزان اکتیویته ید، نسبت مقدار عامل یدیناسیون به آنتی‌بادی و سایر عوامل مؤثر بر نشاندارسازی، مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت. در نهایت، آنتی‌بادی مورد نظر به عنوان ردیاب در کیت رادیوایمونومتریک اسی، جهت سنجش نمونه‌های سرم خون مردان با اندیکاسیون آزمون پروستات با کیت مرجع خارجی مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق با طراحی تجربی، طی مراحل زیر صورت گرفت:

روش نشاندارسازی آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-5 با روش کلروآمین-T

جهت نشاندارسازی، ید-۱۲۵با اکتیویته حدود ۱-۰/۵ میلی‌کوری به آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-5 تهیه شده از شرکت Medix Biochemica و بافر فسفات ۰/۵ مولار اضافه شد و سپس کلروآمین-T جهت انجام واکنش اکسیداسیون، به مخلوط افزوده گردید. زمان واکنش، بین ۳۰ تا ۶۰ ثانیه درنظر گرفته شد. در ادامه، با افزودن متا بی‌سولفیت، واکنش خاتمه می‌یابد. در نهایت، یدید پتاسیم جهت رقیق کردن محلول فوق، اضافه گردید. در این مطالعه، تأثیر نسبت آنتی‌بادی به میزان اکتیویته ید، نسبت مقدار کلروآمین-T به آنتی‌بادی و زمان نشاندارسازی، مورد بررسی قرار گرفت (۱۰).

روش نشاندارسازی آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-5 با روش یدوژن

در این روش، محلول یدوژن (۰/۱ mg/ml در دی‌کلرومتان) به همراه مقدار اضافی دی‌کلرومتان توسط گاز نیتروژن، روی سطح داخلی ویال شیشه‌ای پوشش داده شد. سپس، ۵۰ µL بافر فسفات ۰/۵ مولار (pH=۷/۴) و محلول آنتی‌بادی با غلظت ۱ mg/ml به ویال پوشش داده شده با یدوژن اضافه و ید-۱۲۵ به مخلوط جهت یدیناسیون افزوده شد. پس از گذشت ده دقیقه، بافر فسفات ۰/۰۱ مولار حاوی سدیم کلراید ۱ مولار (pH=۷/۴) اضافه گردید و مخلوط نهایی به ویال دیگری انتقال داده شد. بعد از ۱۵-۱۰ دقیقه، ۲۵۰ µL بافر فسفات ۰/۰۵ مولار حاوی BSA (۰/۵٪) و KI (۵٪) جهت خاتمه‌ی واکنش، به مخلوط نهایی افزوده شد. تأثیر غلظت یدوژن، میزان اضافی دی‌کلرومتان و اندازه‌ی ویال پوشش داده شده، بر کیفیت نشاندارسازی، مورد مطالعه قرار گرفت (۱۱).

تخلیص آنتی‌بادی مونوکلونال نشاندار شده با ستون سفادکس G25

بعد از نشاندارسازی آنتی‌بادی با روش‌های مذکور، در مرحله‌ی بعدی، تخلیص آنتی‌بادی نشاندار با استفاده از روش

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون (Gel Filtration Chromatography) انجام گردید. در این روش، از ستون سفادکس G25 (قطر ۰/۹ cm و طول ۳۰ cm) و محلول شستشو حاوی بافر فسفات ۰/۰۵ مولار، BSA ۱٪، و سدیم آزاید ۰/۰۲٪ جهت تخلیص آنتی‌بادی نشاندار، استفاده شد. شستشوی ستون با بافر شستشو توسط پمپ پریستالتیک (Pharmacia LKB pump) صورت گرفت و سپس خروجی ستون توسط دستگاه جمع‌کننده‌ی قطرات (Pharmacia Biotech) جمع‌آوری گردید. میزان شمارش خروجی ستون برحسب زمان رسم شده و فاصله بین پیک‌های ید-۱۲۵ و آنتی‌بادی نشاندار، نشانگر کارایی مناسب جداسازی ستون می‌باشد. پس از اطمینان از جداسازی و تخلیص مناسب آنتی‌بادی نشاندار، میزان درصد خلوص رادیوشیمیایی (نسبت میزان شمارش آنتی‌بادی نشاندارشده بر شمارش کلی) با روش کروماتوگرافی کاغذی فیلتر واتمن (TLC) (حلال متانول ۱۰٪ در آب) تعیین گردید. با توجه به راندمان رادیوشیمیایی، آنتی‌بادی نشاندار شده به میزان مورد نیاز با بافر تست (Buffer Assay) حاوی ۱۰٪ بافر رقیق‌کننده و ۹۰٪ بافر PBSX (بافر PBSX: بافر فسفات ۱ مولار، سدیم کلرید ۳ مولار، سدیم آزاید، تریتون X-100)، بافر رقیق‌کننده (بافر فسفات ۰/۰۵ مولار، BSA ۱٪، مانیتول ۱٪ و سدیم آزاید ۰/۱٪) رقیق و با شمارش کلی (count/min) و حجم‌های متفاوت در آنالیز کیت IRMA مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی کارآیی آنتی‌بادی نشاندار در آنالیز آنتی‌ژن ویژه‌ی پروستات

۵۰ میکرولیتر از نمونه یا استانداردهای آنتی‌ژن ویژه‌ی پروستات با غلظت‌های ۰/۱، ۳، ۱۰، ۳۰ و ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر (۹) با آنتی‌بادی نشاندارشده رقیق با حجم و شمارش کلی مناسب به لوله‌های پوشش داده شده با جفت آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-1 (تهیه شده از شرکت Medix Biochemica) اضافه گردیده و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط انکوبه گردید. پس از انکوباسیون و شستشو با محلول شستشو جهت حذف مواد اضافی و جذب نشده، با استفاده از دستگاه گاما کانتر (Gamma tech model 600B) لوله‌ها را شمارش نموده و منحنی کالیبراسیون رسم گردید. با توجه به منحنی کالیبراسیون و درصد میزان ماکزیمم پیوند (درصد نسبت شمارش بالاترین استاندارد به شمارش کلی) غلظت نمونه‌ها تعیین و کنترل کیفی به طور همزمان توسط کیت تولید شده‌ی داخلی و کیت مرجع خارجی (Immunotech) با استفاده از ۳۰ نمونه سرم خون مردان با اندیکاسیون آزمایش پروستات، مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی نتایج، ضریب همبستگی بین مقادیر به‌دست آمده با روش Pearson و با آزمون T-test اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها

مقایسه‌ی جداسازی آنتی‌بادی نشاندار شده با ید-۱۲۵ با دو روش کلروآمین-T و یدوژن

مطابق با روش‌های نشاندارسازی و جداسازی، خروجی ستون جمع‌آوری و شمارش خروجی بر حسب زمان مربوط به دو روش، در شکل شماره ۱ نمایش داده شده‌اند. با توجه به شکل ۱، اولین پیک مربوط به آنتی‌بادی نشاندارشده با روش یدوژن از دومین پیک مربوط به ید آزاد با فاصله مناسب‌تری از یکدیگر نسبت به روش کلروآمین-T جدا شده است. ولی شمارش آنتی‌بادی نشاندار در روش کلروآمین-T نسبت به روش یدوژن از میزان بیشتری برخوردار است. با توجه به خلوص رادیوشیمیایی آنتی‌بادی نشاندار شده با روش کلروآمین-T (حدود ۸۰٪) نسبت به روش یدوژن (حدود ۵۰٪) از راندمان مناسب‌تری برخوردار است.

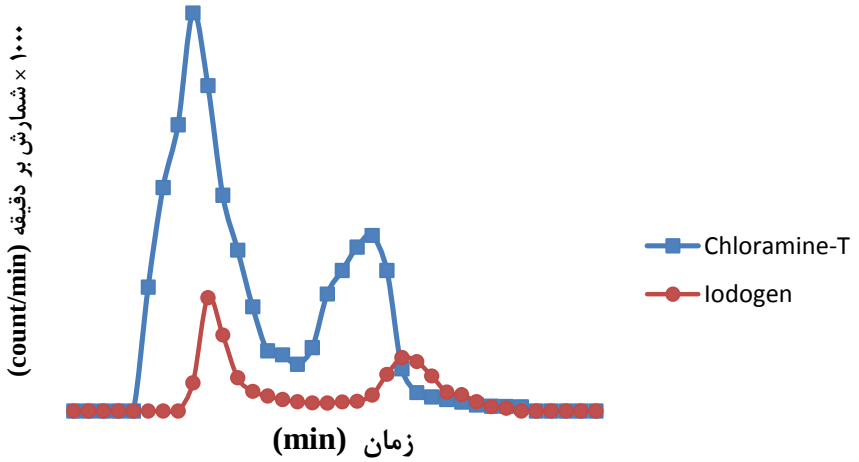
تأثیر عوامل مختلف بر نشاندارسازی آنتی‌بادی

درصد میزان ماکزیمم پیوند (MXB) آنتی‌بادی نشاندار شده با روش کلروآمین-T در آنالیز کیت نشان می‌دهد که با تغییر نسبت مقدار آنتی‌بادی (Ab µg) به میزان اکتیویته‌ی ید (I-125 mci)، درصد خلوص رادیوشیمیایی و فعالیت بیوشیمیایی آنتی‌بادی نشاندار، تغییر چندانی نمی‌کند (جدول ۱). نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد، میزان اکتیویته‌ی ید بر آنتی‌بادی مورد استفاده اختلالی در واکنش بیوشیمیایی آن ایجاد نمی‌کند.

جهت انتخاب شرایط بهینه با توجه به منحنی‌های کالیبراسیون مربوط به آنتی‌بادی نشاندار تهیه شده در شرایط متفاوت، نمونه‌های کنترل با سه بار تکرار، آنالیز گردید. محدوده‌ی غلظتی نمونه‌های کنترل با کیت خارجی مرجع، تعیین گردید.

در جدول ۲، میزان ماکزیمم پیوند و غلظت نمونه‌های کنترل (C2 و C1) در زمان‌های مختلف نشاندارسازی با نسبت‌های متفاوت کلروآمین T به آنتی‌بادی مقایسه شده است. با توجه به نتایج، نسبت کلروآمین-T به آنتی‌بادی ۱/۵ و زمان ۵۰ ثانیه، مناسب‌ترین انتخاب جهت انجام واکنش نشاندارسازی می‌باشد. همچنین پایداری آنتی‌بادی نشاندار بهینه جهت بررسی پایداری در دمای ^{o}C ۴ نگهداری و طی

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]



شکل ۱. مقایسه جداسازی آنتی‌بادی نشاندار شده با ید-۱۲۵ توسط ستون سفادکس G25.

جدول ۱. نتایج مربوط به تأثیر نسبت مقدار آنتی‌بادی به میزان اکتیویته‌ی ید در روش نشاندارسازی با کلروآمین-T.

Ab(µg)/ I-125 (mci)	% TLC	% MXB*
۱۷/۶	۷۹	۴۰
۱۹/۱	۶۸	۴۲
۲۶/۵	۷۳	۴۳
۳۳/۹	۸۰	۴۷
۵۳	۶۹	۳۸

جدول ۲. تأثیر نسبت‌های متفاوت کلروآمین-T به آنتی‌بادی و زمان نشاندارسازی.

ردیف	Chloroamine-T/Ab	زمان نشاندارسازی (ثانیه)	% MXB	محدوده غلظت C1 ng/ml (۳/۵-۵/۷)	محدوده غلظت C2 ng/ml (۱۶/۷-۲۸/۷)
۱	۱/۵	۱۵	۳۰	۶/۸ ±۰/۳	۲۹/۸ ±۰/۵
۲	۱/۵	۳۰	۳۵	۶/۵ ±۰/۲	۲۹/۹ ±۰/۳
۳	۱/۵	۴۵	۳۷	۶/۴ ±۰/۶	۳۰/۲ ±۰/۵
۴	۱/۵	۵۰	۴۷	۴/۹ ±۰/۲	۲۶/۴ ±۰/۵
۵	۱/۵	۶۰	۲۳	۳/۸ ±۰/۴	۲۵/۸ ±۰/۴
۶	۰/۷۵	۱۵	۲۳	۷/۸ ±۰/۶	۳۴/۷ ±۰/۶
۷	۰/۷۵	۳۰	۳۰	۶/۱ ±۰/۳	۳۲/۹ ±۰/۳
۸	۰/۷۵	۴۵	۳۰	۷/۴ ±۰/۷	۳۰/۵ ±۰/۸

سی روز با توجه به مدت انقضای کیت با کیت داخلی IRMA مورد سنجش قرار گرفت.نتایج نشان می‌دهد که آنتی‌بادی نشاندار، از پایداری مناسبی برخوردار است. با توجه به جدول ۳، بهترین غلظت یدوژن و حجم ی‌کلرومتان به‌کار رفته در نشاندارسازی ۰/۱ mg/ml و ۲۰۰ µL می‌باشد. پس از گذشت دو هفته، آنتی‌بادی نشاندار که در دمای ۴ ^{o}C نگهداری شده بود جهت بررسی پایداری با کیت IRMA مجدداً مورد آنالیز قرار گرفت و بر اساس نتایج به‌دست آمده، درصد ماکزیمم پیوند، حدود ۳۸٪ کاهش و افت مشخصی در غلظت نمونه‌های کنترل، مشاهده شد.

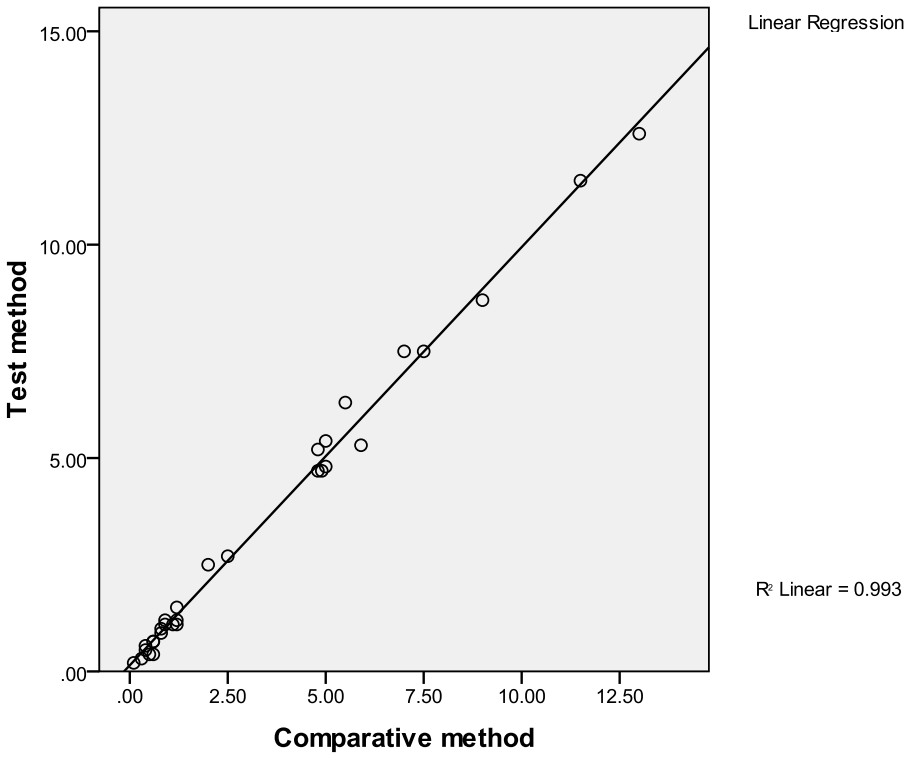
[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

جدول ۳. تأثیر غلظت یدوژن و حجم دی‌کلرومتان بر میزان خلوص رادیوشیمیایی و فعالیت بیوشیمیایی آنتی‌بادی نشاندار.

غلظت یدوژن mg/ml	حجم دی‌کلرومتان µL	% TLC	%MXB	محدوده غلظت C1 ng/ml (۳/۵-۵/۷)	محدوده غلظت C2 ng/ml (۱۶/۷-۲۸/۷)
۰/۱	-	۳۶	-	-	-
۰/۱	۲۰۰	۵۷	۴۲	۴/۹±۰/۳	۱۵/۷±۰/۴
۰/۱	۴۰۰	۳۰	۲۵/۲	۷/۳±۰/۵	۲۳/۹±۰/۶
۰/۲	۲۰۰	۳۷	۴۶/۸	۵/۳±۰/۶	۱۹/۴±۰/۲

کنترل کیفی کیت IRMA

با مقایسه‌ی نتایج حاصل از نشاندارسازی در شرایط مختلف، آنتی‌بادی نشاندارشده با روش کلروآمین-T نسبت به روش یدوژن از کارایی و پایداری بهتری برخوردار می‌باشد. لذا جهت کنترل کیفی کیت IRMA از آنتی‌بادی نشاندار شده با روش بهینه کلروآمین-T استفاده گردید و ۳۰ نمونه واقعی به طور همزمان توسط کیت معتبر خارجی (Immunotech) و کیت داخلی مورد آنالیز قرار گرفت. نمودار مقایسه‌ای رگرسیون خطی رسم (شکل ۲) و آزمون T-test جهت محاسبه‌ی مؤلفه‌های رگرسیون، ضریب همبستگی (R^2=۰/۹۹۳)، اختلاف میانگین‌ها (bias=۰/۱) و خطای محاسبه شده‌ی کلی (TE_{cal}= ۶/۱) انجام شد. هم‌ترازی نتایج حاصل از دو کیت با توجه به معیار تصمیم‌گیری حاصل از آزمون T-test مورد بررسی قرار می‌گیرد. بر اساس آزمون T-test دو نمونه مستقل، با فرض برابری واریانس‌های نتایج کیت داخلی و کیت مرجع (میانگین کیت داخلی = ۳/۶ ±۰/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و میانگین کیت مرجع = ۳/۵±۰/۶ نانوگرم بر میلی لیتر) معیار تصمیم‌گیری Sig (2-tailed) برابر با ۰/۹۹۳ به دست آمد که از ۵٪ (فاصله اطمینان ۹۵٪) بسیار بزرگتر است، در نتیجه می‌توان هم‌ترازی نتایج حاصل از دو کیت را تأیید کرد.



شکل ۲. نمودار مقایسه‌ای رگرسیون خطی نمونه‌های واقعی با کیت مرجع (Comparative Method) و کیت داخلی (Test Method).

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

بحث

در این بررسی نشان داده شد که آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-5 تهیه شده از شرکت Medix علیه آنتی‌ژن ویژه‌ی پروستات تام (total PSA) که از افینیتی بسیار مناسبی برخوردار می‌باشد، توسط روش‌های کلروآمین-T و یدوژن با ید-۱۲۵ نشاندارشده و با مقایسه‌ی نتایج می‌توان دریافت که آنتی‌بادی نشاندارشده با روش کلروآمین-T نسبت به روش یدوژن، از کارایی مناسب‌تری برخوردار است.

به‌طور نسبی، در پژوهش‌های مشابه نشاندارسازی آنتی‌بادی‌ها با روش کلروآمین-T به نظر می‌رسد این روش، سرعت بالایی برای نشاندارسازی در شرایط اکسیداسیون قوی دارد که در مواردی باعث تخریب مولکولی آنتی‌بادی می‌گردد (۱۲)، که در پژوهش صورت گرفته، آنتی‌بادی مورد استفاده در شرایط اکسیداسیون سریع و قوی، مقاوم بوده است. در روش یدوژن، شرایط اکسیداسیون، ملایم‌تر و در زمان طولانی‌تری صورت می‌پذیرد که برای آنتی‌بادی‌هایی با مقاومت کمتر، مناسب می‌باشد. بهتر بود که میزان نشاندارسازی آنتی‌بادی مونوکلونال SPRN-5 با ید-۱۲۵ از درصد بالاتری برخوردار باشد که می‌توان با تغییر در شرایط واکنش و نحوه‌ی جداسازی آن بازده‌ی اکسیداسیون را بهتر نمود. به‌طورکلی سادگی و سهولت این روش در زمان کوتاه، از مزایای این روش می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که نسبت‌های متفاوت آنتی‌بادی به اکتیویته‌ی ید، تأثیر چندانی بر درصد خلوص رادیوشیمیایی و فعالیت بیوشیمیایی آنتی‌بادی نشاندار ندارد و نشان‌دهنده‌ی پایداری آنتی‌بادی در برابر مقادیر متفاوت اکتیویته‌ی ید می‌باشد.

با مقایسه‌ی نتایج حاصل از نشاندارسازی در شرایط مختلف، روش کلروآمین-T نسبت به روش یدوژن، از کارایی و پایداری بهتری برخوردار می‌باشد. لذا جهت کنترل کیفی کیت IRMA از آنتی‌بادی نشاندار شده با روش بهینه کلروآمین-T استفاده و با کیت استاندارد خارجی جهت صحه‌گذاری مقایسه گردید که مقادیر به‌دست آمده، هم‌ترازی مناسبی را تأیید می‌کند. در مواردی، کیت‌های مختلف تجاری برای یکسری نمونه، به علت عوامل مداخله‌گر، تناقض‌هایی حاصل می‌شود (۱۳) که در این کار پژوهشی، هم‌ترازی نتایج، نشان از عدم تداخل عوامل مداخله‌گر و سایر شرایط موجود دارد که در نتیجه می‌توان به صحت آنالیتیکی کیت به‌دست آمده، اطمینان نمود (۱۴).

در این تحقیق، ۳۰ نمونه بیمار تنها با شاخص آزمون پروستات مورد ارزیابی قرار گرفتند که توصیه می‌شود در ادامه، این مطالعه روی گروه‌های مختلف مبتلا به بیماری پروستات، از قبیل سرطان خوش‌خیم و بدخیم یا بدون بیماری خاص، جهت تکمیل مطالعات بالینی و پزشکی، صورت گیرد. حال با توجه به نتایج به‌دست آمده و مقایسه‌ی کارایی دو روش تهیه‌ی آنتی‌بادی مونوکلونال نشاندار شده، می‌توان از نقطه نظر میزان خطای آنالیتیکی (Bias) و نحوه‌ی اجرای مراحل تولید با استفاده از روش کلروآمین-T، کیت تهیه شده قادر است با کیت‌های استاندارد، رقابت نماید.

REFERENCES

1. Frydenberg M. Diagnosing prostate cancer. Austral Fam Physician 2007;36:345–7.

2. Thomson IM, Ankerst DP. Prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer. CMAJ 2007;176:1853–8.

3. Kort SAR, Martens F, Vanpoucke H, Duijnhoven HL van, Blakenstein MA. Comparison of 6 automated assays for total and free PSA with special reference to their reactivity toward the WHO 96/670 reference preparation. Clin Chem 2006;52:1568–74.

4. Goc S, Jankovic M. Evaluation of molecular species of prostate-specific antigen complexed with immunoglobulin M in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. Dis Markers 2013;35(6):847–855.

5. Heijnsdijk EA, Wever EM, Auvinen A, Hugosson J, Ciatto S, Nelen V, *et al*. Quality-of-life effects of prostate-specific antigen screening. N Engl J Med 2012;367:595–605.

6. Stenman UH, Paus E, Allard WJ, Andersson I, Andres C, Barnett TR, *et al*. Summary report of the ID-3 work- shop: characterization of 83 antibodies against prostate specific antigen. Tumor Biol 1999;20:1–12.

7. Stephan C, Jung K, Diamandis E, Rittenhouse HG, Lein M, Loening SA. Prostate-specific antigen, its molecular forms, and other kallikrein markers for detection of prostate cancer. Urology 2002;59:2–8.

8. Pillai MRA, Bhandarkar SD. Radioimmunoassay: principles and practice, Devi printers and binders, Thane, India; 1998.

9. Janković MM, Kosanović MM, Hajduković-Dragojlović LD, Golubović SJ, *et al*. Development of immunoradiometric assay for quantitative determination of free prostate specific antigen. J Ugoslov Med Biochem 2005;24:129–34.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

10. Hunter WM, Greenwood FC. Preparation of Iodine-131 labeled human growth hormone of high activity. Nature 1962;194:495–6.

11. Franker PJ, Speck JC. Protein and cell membrane iodination with a sparingly soluble chloramide. Biochem Biophys Res Common 1978;80:849–57.

12. Lindegren S, Skarnemark G, Jacobsson L, Karlsson B. Chloramine-T in high-specific-activity radioiodination of antibodies using N-succinimidyl-3-(trimethylstannyl)benzoate as an intermediate. Nucl Med Biol 1998;25:659–65.

13. Bjerner J, Nustad K, Norum LF, Hauge Olsen K, Børmer OP. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002;48:613–21.

14. Armbruster DA, Alexander DB. Sample to sample carryover: a source of analytical laboratory error and its relevance to integrated clinical chemistry/immunoassay systems. Clin Chim Acta 2006;373:37–43.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]