مروری بر روش‌های تشخیصی مبتنی بر نانوذرات طلا

زهرا ابوالقاسمی[۱]، مهدی زین الدینی*[۲]، سیدمرتضی رباط جزی[۳]

۱-دانشجوی دکتری مهندسی شیمی (بیوتکنولوژی)، گروه مهندسی شیمی، مجتمع شیمی و مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران.

۲-دانشیار، گروه علوم زیستی، مجتمع شیمی و مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران.

۳-استادیار، گروه مهندسی شیمی، مجتمع شیمی و مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران.

*صندوق پستی ۱۵۸۷۵۱۷۷٤، تهران، ایران
zeinoddini52@mut.ac.ir

دریافت: ۱٤۰۱/۱۱/۰۱ پذیرش: ۱٤۰۲/۰۳/۰۱

چکیده

نانوذرات کروی شکل طلا با خواص منحصر به‌فرد خود دارای قابلیت زیادی جهت تشخیص انواع مختلف آنالیت‌ها بوده و امروزه استفاده از نانو ذرات طلا کاربردهای گسترده‌ای در زمینه پزشکی و زیست فناوری از جمله تشخیص پاتوژن‌های آلوده کننده آب، هوا و مواد غذایی داشته و جایگزین مناسبی برای روش‌های شیمیایی و فیزیکی تلقی می‌شود. فناوری‌های نوین در طراحی حسگر زیستی مبتنی بر نانوذرات طلا، قابلیت شناسایی ترکیبات زیستی را به‌طور دقیق و سریع فراهم می‌کند. یکی از این فناوری‌ها، حسگرتشخیصی بر پایه رزونانس پلاسمون سطحی (SPR) است که بر اساس خواص نوری خود قادر به اندازه‌گیری بسیار حساس و اختصاصی میان‌کنش‌های مولکول‌های زیستی، بدون تأخیر زمانی می‌باشند. این فناوری می‌تواند در زمان کوتاه و با حساسیت مناسب ویژگی‌های میانکش مواد زیستی (الیگونوکلئوتید، پروتئین، باکتری) بر روی سطح، از جمله سرعت واکنش، تمایل و غلظت میانکش‌های سطحی را کمی‌سازی کند. در این مقاله مروری تلاش شده است ضمن بررسی خصوصیات و ویژگی‌های پلاسمون سطحی نانوذرات طلا، کاربردهای تشخیصی ساده نانوذرات طلا بر اساس روش پلاسمون سطحی موضعی(LSPR) و تشخیص در زیست پزشکی، بررسی و تشریح شود.

کلید واژگان: نانوذرات طلا، حسگر زیستی، رزونانس پلاسمون سطحی، تشخیص.

۱- ویژگی‌ها و اهمیت استفاده از نانوذرات طلا در روش‌های تشخیص

فلزات نجیب گروهی از عناصر واسطه جدول تناوبی می‌باشند که به‌دلیل خواص ویژه خود دارای اهمیت بسیار زیادی در علوم مختلف از جمله متالورژی، هنر، پزشکی و علوم آزمایشگاهی می‌باشند. این فلزات دارای خواص ویژه و منحصر به‌فرد فوتونیک، الکترونیک و کاتالیتیک می‌باشند. با کوچک شدن ذرات در سطح نانو، خواص کوانتومی آنها تغییرات فاحشی خواهد کرد که استفاده از آنها به‌عنوان سیستم‌های تشخیصی با قابلیت بالا را ممکن می‌کند. همچنین با توجه به این که قابلیت تهیه این فلزات در سطح نانو موجود می‌باشد، می‌توان آنها را در ابعاد نانومتری تهیه کرده و کاربردهای ویژه‌ای برای آن تعریف کرد. خواص و ویژگی‌های نانوذرات به‌طور کلی به جنس و اندازه آنها بستگی دارد و همه خواص و ویژگی‌های آنها را می‌توان با دو عامل افزایش نسبت سطح به حجم و گسسته شدن ترازهای انرژی توجیه کرد [۲و۱]. یکی از نانوذرات متداول با خواص منحصر به‌فرد و کاربرد گسترده در زیست فناوری و پزشکی، نانوذرات طلا[1] (GNPs) هستند که دارای کاربردهای مختلف در طراحی زیست حسگرها و روش‌های تشخیصی هستند. به‌عنوان مثال، در ۲۵۰۰ سال پیش از میلاد مسیح این فلز به‌عنوان روش درمانی برای جوش، آبله و زخم‌های پوستی مورد استفاده قرار گرفته است. در سال‌های اخیر نیز استفاده از GNPs، به‌دلیل داشتن ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی منحصربه‌فرد مانند خواص نوری، کاربرد ساده و سازگاری در زمینه‌های مختلف تشخیصی از جمله تصویر برداری زیستی، تشخیص الیگونوکلئوتیدها، پروتئین‌ها، حسگر کالیمتریک، توسعه یافته‌اند[۳]. از مهمترین مزایای استفاده از GNPs می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: (الف) GNPs را می‌توان به سادگی در اندازه‌ها و شکل‌های مختلف سنتز کرد. (ب) GNPs را می‌توان به سادگی از طریق انواع مولکول‌های زیستی، از جمله داروها، ژن‌ها، و لیگاندهای حاوی گروه‌های عاملی مانند آمین‌ها، تیول‌ها و فسفین‌ها به‌دلیل مساحت سطح بزرگ و وجود بار منفی روی سطوح، عامل‌دار کرد. (ج) GNPs در برابر اکسیداسیون پایدار بوده، زیست سازگاری بالا دارند و سمیتی برای سلول (سیتوتوکسیک) ندارند. (د) GNPs دارای ویژگی‌های نوری و الکترونیکی منحصر به فردی هستند که به‌طور قابل ملاحظه‌ای به شکل، اندازه و وضعیت تجمع آنها مربوط می‌شود[۵و٤]. این خاصیت فیزیکی مهم GNPs به‌دلیل الکترون‌های لایه هدایتی می‌باشد که در برخورد با امواج الکترومغناطیس رفتار متفاوتی از خود بروز می‌دهند و به آن رزونانس پلاسمون سطحی[2] (SPR) می‌گویند. درنتیجه با توجه به خواص فیزیکی و شیمیایی GNPs به‌ویژه خاصیت SPR، می‌توان از این نانوذرات به‌عنوان حسگرهای زیستی و شیمیایی در روش تشخیص مواد و آنالیت‌ها استفاده کرد. تشخیص سریع و دقیق مواد شیمیایی و زیستی با حساسیت بالا، مقرون به صرفه بودن، سادگی روش، صرفه جویی در زمان و همچنین محدودیت تشخیصی پایین[3] (LOD)، سبب شده که از GNPs در زمینه‌های مختلف حسگری، از جمله پزشکی، نظارت بر محیط زیست و زیست فناوری استفاده شود[۳].

۲- رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات طلا

اصطلاح "پلاسمون" اولین بار توسط پاین و بوهم[4] پیشنهاد شد. به‌طوری که نوسان رزونانس الکترون‌های آزاد در سطح ذره در حضور نور را به‌عنوان تشدید پلاسمون سطحی توصیف کردند[٦]. در یک نمای عمومی، پلاسمون‌ها می‌توانند به‌عنوان یک نوسان چگالی الکترون‌های آزاد نسبت به یون‌های مثبت در یک فلز

[1] Gold Nanoparticles

[2] Surface Plasmonic Resonance

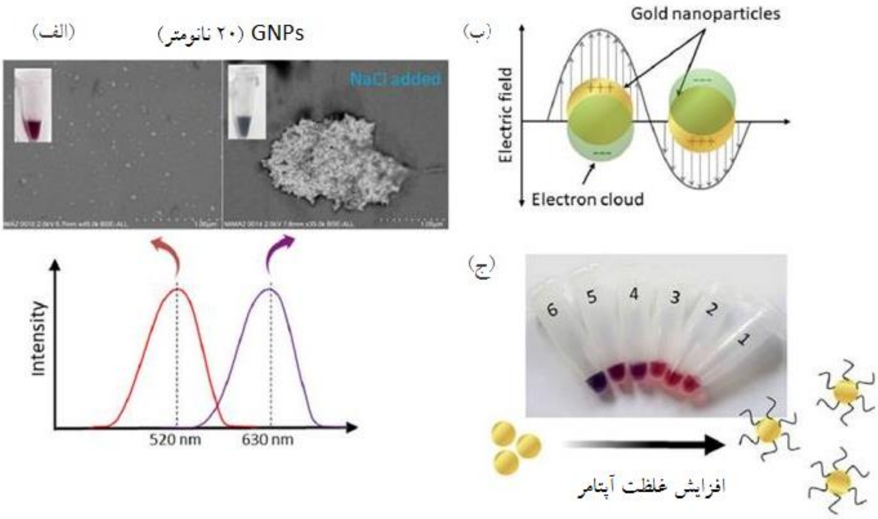
[3] Limit of Detection

[4] Pines and Bohm

توصیف شوند. برای روشن شدن مطلب، یک سیم را تصور کنید که در یک میدان الکتریکی از چپ به راست قرار دارد. این باعث می‌شود الکترون‌ها به سمت راست میدان جذب شوند و یون‌های مثبت در سمت دیگر باقی بمانند تا زمانی که میدان را درون فلز خنثی نمایند. اگر میدان الکتریکی حذف شود، الکترون‌هایی که به طرف راست حرکت می‌کردند، یکدیگر را دفع می‌کنند و به وسیله یون‌های مثبت جذب می‌شوند. الکترون‌ها در بسامد پلاسما به جلو و عقب می‌روند تا زمانی که انرژی آنها در یک فرایند مقاومتی یا استهلاکی تمام شود. پلاسمون‌های سطحی توسط فوتون‌های نورمرئی یا فرابنفش برانگیخته می‌شوند که اگر برانگیختگی در منطقه نزدیک سطح فلز رخ دهد به آن پلاسمون‌های سطحی (SPR) می‌گویند. به پلاسمون‌های سطحی نانوذره‌ای که اندازه کوچک‌تری از طول موج نور دارند (نسبت شعاع آنها به طول موج ، R/λ، کمتر از ۰/۱)، پلاسمون سطحی (SPR)[1] موضعی یا جایگزیده (LSPR[2]) می‌گویند. این پدیده براساس خواص نوری منحصر به فرد نانوذرات فلز نجیب، امکان تمایز رنگ ذرات انباشته شده و غیرانباشته را در یک محلول فراهم می‌کند. ابعاد نانو ذره‌های فلزی به قدری کوچک است که نور به آسانی می‌تواند به عمق نفوذ پیدا کرده و با تمام الکترون‌های باند هدایت برهمکنش انجام دهد[۷و۸]. حسگرهای LSPR به‌طور معمول بر اساس فلزات نجیب (طلا، نقره، پلاتین و پالادیوم) ساخته می‌شوند، زیرا دارای باند جذب نوری در محدوده‌ی قابل مشاهده طیف الکترومغناطیسی هستند. طلا با توجه به سهولت و بازه عملکردی بالای عامل‌دار کردن با مولکول‌های زیستی و سازگاری آن با مولکول‌های فعال شیمیایی و زیستی، پرکاربردترین فلز نجیب در حسگرهای زیستی مبتنی بر LSPR است.

طبق تئوری مای[3]، تشدید پلاسمون سطحی منطقه‌ای نانوذره به‌طور عمده به پنج عامل اندازه، شکل، ترکیب یا مواد تشکیل‌دهنده نانوذره، فاصله بین ذرات و در نهایت ضریب شکست محیط اطراف نانوذرات وابسته است. نوسان پلاسمون و رنگ GNPs در یک محلول (محیط دی الکتریک) به شدت تحت تأثیر فاصله بین ذرات قرار دارد، به‌طوریکه هرچه فاصله بین GNPs کاهش یابد، شدت تغییر رنگ از قرمز به ارغوانی بیشتر می‌شود[۹و۱۰]. این خصوصیات، اساس حسگرهای شیمیایی و زیستی بوده و بر طول موج و شدت پیک تأثیر می‌گذارند. گونه‌هایی که بتوانند این خصوصیات را تغییر دهند، توانایی تغییر طول موج یا شدت LSPR را دارند و بنابراین می‌توانند به‌وسیله حسگرهای LSPR شناسایی شوند. برای جلوگیری از تجمع GNPs در اهداف تشخیصی، مدیریت بر پایداری آنها در محلول ضروری است. حالت تجمع نانوذرات به تعادل بین نیروی دافعه الکترواستاتیک و نیروی جاذبه واندروالس در محلول حاوی نانوذرات، عناصر شناسایی و هدف بستگی دارد[۱۱و۱۲]. همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، GNPs کروی با اندازه‌های مختلف (قطر ۱ تا ۵۰ نانومتر) در یک محلول دارای رنگ قرمز شرابی هستند (طیف پلاسمونیک در حدود ۵۲۰ نانومتر است). در حالی‌که GNPs تجمع‌یافته دارای رنگ بنفش و طیف پلاسمونیک در حدود ۶۳۰ نانومتر است (شکل ۱- الف). پلاریزاسیون بار روی سطح نانوذرات یک میدان دوقطبی ایجاد می‌کند که به نوبه خود بر جذب و پراکندگی نور تأثیر می‌گذارد (شکل ۱- ب). هر جسمی که وارد این منطقه شود بر LSPR تأثیر می‌گذارد.

[1] Surface Plasmone Resonance
[2] Localized surface plasmonic resonance
[3] Mie theory

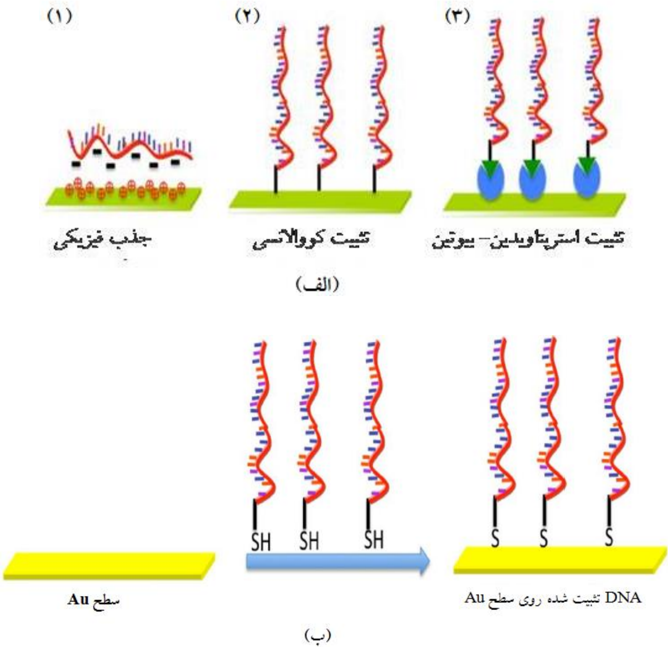


شکل۱ مکانیسم شناسایی آنالیت‌ها و پاتوژن‌ها با استفاده از خاصیت پلاسمون سطحی موضعی (LSPR) نانوذرات طلا. (الف) یک محلول آبی رنگ قرمز ازGNPs حاوی نانوذرات تثبیت شده (قطر ٢٠ نانومتر) است. در حالی‌که پس از افزودن نمک، رنگ محلول به آبی تغییر می‌کند و حاوی نانوذرات انباشته شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی است. این دو محلول دارای حداکثر جذب متمایز در ٥٢٠ نانومتر (قرمز) و ٦٣٠ نانومتر (آبی) هستند؛ (ب) طرحی از نوسان پلاسمون برای یک کره، نشان دهنده رفتار نانوکره های فلزی در یک میدان الکتریکی خارجی؛ (ج) DNA (آپتامر) در محلول با اتصال به GNPs از تجمع آنها بسته به غلظت آپتامر جلوگیری می‌کند[١٣].

٣- عامل‌دار کردن سطح نانوذرات طلا

عناصر شناساگر نظیر پروب‌های ssDNA، آنتی‌بادی، پپتیدها، باکتریوفاژها و آپتامرها، توالی اسیدنوکلئیک یا بخش‌های پروتئینی خاصی از یک پاتوژن را می‌توانند تشخیص دهند. برای استفاده از GNPs به‌عنوان سامانه تشخیص زیستی، باید سطح آنها عامل‌دار شود، به این ترتیب، عناصر تشخیصی برای ردیابی هدف خاص، بر روی آن تثبیت می‌شود. از آنجایی‌که هر نوع مولکول عامل‌دار شده خواص خاصی ایجاد می‌کند و نیاز به یک واکنش شیمیایی مناسب دارد، روش عامل‌دار کردن باید با دقت و با توجه به کاربرد مورد نظر انتخاب شود. به همین منظور می‌توان دو روش عامل‌دار کردن اصلی، شامل اتصال کووالانسی و اتصال غیرکووالانسی را در نظر گرفت. اتصال کووالانسی کانژوگه کردن بسیار پایداری را ایجاد می‌کند و به‌طور گسترده در حوزه‌های نیازمند ایجاد پیوند پایدار، مانند تصویربرداری، ردیابی و قرار دادن در واکنش‌های (بیو) شیمیایی استفاده می‌شود. اتصال غیرکووالانسی نیز اغلب در طرح‌های سنجش و تحویل که در آن سهولت رهاسازی و برگشت‌پذیری مزیت دارد، به کار برده می‌شود[٣]. با تکیه بر این دو راهبرد اصلی، بسته به کاربرد و آنالیت مورد نظر، تعداد زیادی مولکول (زیستی) می‌تواند به سطح GNPs متصل شوند. همانگونه که در شکل ٢ نشان داده شده است، این عناصر باید با روشی بر روی GNPs کلوئیدی جذب و تثبیت شوند تا به هنگام تماس با آنالیت به ترکیب مورد نظر متصل شده و تغییرات فیزیکی و شیمیایی ناشی از این اتصال به صورت یک پیغام قابل اندازه‌گیری تبدیل شود. تثبیت را می‌توان به‌عنوان اتصال مولکول‌ها به یک سطح که منجر به کاهش یا از دست دادن تحرک می‌شود، تعریف کرد. موفقیت این ابزار بستگی به شیمی استفاده شده برای اتصال پروب به سطح مبدل و کنترل چگالی آن دارد. تثبیت کردن با تماس فیزیکی و شیمیایی انجام می‌شود.

شکل۲ اتصال عناصر زیستی مختلف روی سطح GNPs.



شکل۳ (الف) روش‌های تثبیت آپتامر روی سطح (١٥) ، (ب) تثبیت DNA روی سطح طلا به روش کووالانسی[١٥].

در حالت کلی انتخاب یک روش تثبیت مناسب، توسط خواص فیزیکوشیمیایی سطح و عنصرزیستی تعیین می‌شود. دستیابی به حساسیت و گزینش‌پذیری بالا مستلزم به حداقل رساندن جذب غیراختصاصی، پایداری عنصر زیستی تثبیت شده و جهت‌گیری خوب عنصرزیستی برای اتصال به مولکول هدف است[١٤]. کنترل این مرحله برای اطمینان از واکنش‌پذیری بالا، جهت‌گیری، دسترسی و پایداری پروب تثبیت‌شده به سطح و جلوگیری از اتصال غیراختصاصی ضروری است.

همانطور که در شکل ۳- الف نشان داده شده ، مهمترین روش‌های تثبیت که طی سال‌های اخیر توسعه یافته است، عمدتاً براساس سه مکانیسم جذب فیزیکی، تثبیت کووالانسی و تثبیت بیوتین- استرپتاویدین [١٥] مهم بوده است.

۳-۱- تثبیت توسط جذب فیزیکی

جذب فیزیکی ساده‌ترین روش تثبیت است زیرا نیازی به اصلاح اسیدنوکلئیک ندارد. تثبیت براساس برهمکنش‌های یونی که بین گروه‌های دارای بار منفی موجود در پروب

DNA و بارهای مثبت موجود در سطح نانوذره انجام می‌شود (شکل ۳). در نتیجه DNA ها تثبیت‌شده احتمالاً به‌صورت تصادفی روی سطح قرار می‌گیرند، زیرا هر مولکول می‌تواند تماس‌های زیادی را در جهت‌گیری‌های مختلف ایجاد کند تا تعاملات دافعه با بستر و پروب‌های DNA که قبلا جذب شده را به حداقل برساند. به‌عنوان مثال از یک فیلم کیتوزان برای تثبیت ssDNA روی الکترود کربن شیشه‌ای (GCE) با جذب فیزیکی استفاده شده است[۱۷و۱۶]. پتانسیل بکارگرفته شده در طول تثبیت، پایداری پروب را از طریق جاذبه الکترواستاتیکی بین سطح با بار مثبت و ساختار قند فسفات با بار منفی DNA، افزایش می‌دهد.

۳-۲- تثبیت توسط اتصال کووالانسی

در تثبیت DNA روی سطوح حالت جامد با استفاده از برهمکنش الکترواستاتیکی به‌عنوان نیروی محرکه، تغییرات محیطی مانند قدرت یونی، pH و دما می‌توانند باعث دفع پروب‌های DNA جذب شده شود. بنابراین، یک پیوند کووالانسی برای تثبیت پروب‌های DNA برای دستیابی به پایداری خوب و استحکام اتصال بالا آسان‌تر است [۱۷]. جذب شیمیایی و پیوند کووالانسی دو روش متداول اتصال کووالانسی برای تثبیت DNA ها روی سطح هستند که در گزارشات قبلی ارائه شده‌اند (جدول ۱). مطابق شکل ۳- ب، برهمکنش‌های تیول- فلز اغلب برای اتصال کووالانسی مولکول‌های زیستی بر روی سطوح طلا استفاده می‌شود. گروه‌های تیول تمایل زیادی نسبت به سطوح فلزات نجیب از خود نشان می‌دهند. به طوری‌که امکان تشکیل پیوندهای کووالانسی بین اتم‌های گوگرد و طلا را فراهم می‌کند[۱۵].

۳-۳- برهمکنش‌های استرپتاویدین -بیوتین

روش دیگر برای اتصال غیرکووالانسی پروب آپتامر به سطح مبدل، براساس تشکیل کمپلکس استرپتاویدین- بیوتین است. بیوتین مولکول کوچکی است که با پیوندی نزدیک به قدرت پیوند کووالانسی به استرپتاویدین متصل می‌شود. از این‌رو اتصال بیوتین به استرپتاویدین بسیار پایدار و مقاوم در برابر تغییرات دما، pH و حلال‌های آلی است. استرپتاویدین می‌تواند چهار محل اتصال یکسان برای بیوتین فراهم کند. می‌توان از این برهمکنش‌ها برای تثبیت پروب آپتامر به سطوح مبدل استفاده کرد. در این روش انتهای پروب آپتامر بیوتین‌دار شده در تماس با سطوح اصلاح شده با استرپتاویدین- بیوتین قرار می‌گیرد و در پی اتصال بیوتین به استرپتاویدین، بیوتین روی سطح مبدل تثبیت می‌شود[۱۵].

همچنین در جدول ۲ مزایا و معایبی که در روش‌های تثبیت وجود دارد، ارائه شده است.

جدول۱ نمونه‌هایی از گروه‌های عاملی که می‌توانند برای عامل‌دار کردن GNPs استفاده شوند [۱۸].

گروه‌های سطحی	اصلاح لیگاند	ویژگی‌ها	کاربردهای تشخیصی
آمین‌ها	پلی اتیلن استیله (PEI)	بهبود کارایی انتقال GNPs به‌دلیل جذب الکترواستاتیک	GNPs به‌عنوان عوامل کنتراست CT برای تشخیص سرطان کبد
	پلی‌آکریل آمید (PAAm)	عامل کاهنده و تثبیت کننده سطح	کاربرد در تشخیص مبتنی بر SERS
	گرافن و GNPs اصلاح شده با آمین	ارتقا رفتار انتقال الکترون بین پراکسید هیدروژن و الکترود	کاربرد بالقوه در زمینه الکتروشیمیایی

لیگاندهای تیوله	Thiolated-Au نانوذرات مبتنی بر پیوند کووالانسی	تثبیت نانومیله‌های طلا با ساختارهای توخالی مینیاتوری	تصویربرداری فوتوآکوستیک in vivo و NIR[1]
	اسید لیپوئیک (LA) و اسید دی‌هیدرولیپوئیک (DHLA)	نانومکعب های طلایی پوشش داده شده با LA و PEG DHLA، به‌عنوان پروب‌های لومینانس	کاربرد در تصویربرداری بافتی، تصویربرداری فلورسانس سلولی در شرایط آزمایشگاهی (به‌عنوان مثال، لومینسانس NIR در سلول‌های (HeLa)
	آمینواسیدها	GNPs همراه با آپتامر پلی پپتیدی با توالی بلند و کربن دات‌ها	تشخیص مارکرهای سرطان غدد بزاقی (به‌عنوان مثالmatrilysin)
	پلیمرها	نانومیله‌های طلا تیوله با PEG عامل‌دار شده	عوامل کنتراست جدید برای پنجره NIR
	الیگونوکلوتیدها	GNPs کانژوگه با DNA تیوله با برچسب فلورسنت	تشخیص درجا miRNA اگزوزوم (micro-RNA) با توجه به تغییرات شدت سیگنال فلورسانس
لیگاندهای سلنیوم	نانوحسگرهای طلا مبتنی بر پیوند Au-Se	جایگزینی سنسور Au-S به Au-Se پس از تشخیص سلنول	تشخیص بیومارکرهای سرطان (به‌عنوان مثال، متالو پروتئیناز ۲، کاسپاز-۹) تصویربرداری از RNA هدف در سلول‌های زنده
مولکول‌های زیستی	آلبومین سرم گاوی (BSA)	GNPs با BSA-FITC (فلورسئین ایزوتیوسیانات) عامل‌دار شدند.	تشخیص یون‌های CN و I که به‌صورت چشمی با تجمع نانوپروب طلا (حسگر رنگ‌سنجی)
نانوذرات هیبریدی	دو منظوره core@shell Au@Pt/ GNPs	حساسیت تشخیص به‌دلیل هم افزایی بین فلزات طلا و پلاتین در سطح NP بهبود یافته است.	حسگر الکتروشیمیایی برای تشخیص نشانگرهای بیماری آلزایمر در پلاسما (پپتید p53 تغییر یافته)
نانوذرات سیلیکا	GNPs مبتنی بر پوسته سیلیکا	آمینو مرکاپتوکربوکسیل می‌تواند برای اصلاحات ثانویه استفاده شود.	حسگر زیستی رنگ سنجی و تشخیص مبتنی بر SERS

جدول۲ مزیت‌ها و معایب روش‌های تثبیت [۱۵]

	جذب فیزیکی	برهم کنش کووالانسی	برهم کنش استرپتاویدین-بیوتین
مزایا	-ساده و سریع -روش مستقیم (بدون نیاز به اتصال دهنده) -مناسب برای DNA، RNA و PNA	-پایداری خوب -قدرت پیوندی بالا -استفاده در طولانی مدت	-جهت گیری بهبودیافته -اختصاصیت و عملکرد بالا -به خوبی کنترل شده و برگش پذیری
معایب	-جهت گیری تصادفی -اتصال ضعیف آپتامرها به سطح -جداشدن از سطح با شستشو ، مشکل فشردگی پروب های آپتامر روی سطح و تکرار پذیری ضعیف	-استفاده از اتصال دهنده (linker) -آهسته، برگشت ناپذیر -مشکل فشردگی پروب های آپتامر روی سطح	-گران، آهسته -مشکل فشردگی پروب های آپتامر روی سطح -استفاده از اتصال دهنده زیست سازگار تکرار پذیری ضعیف

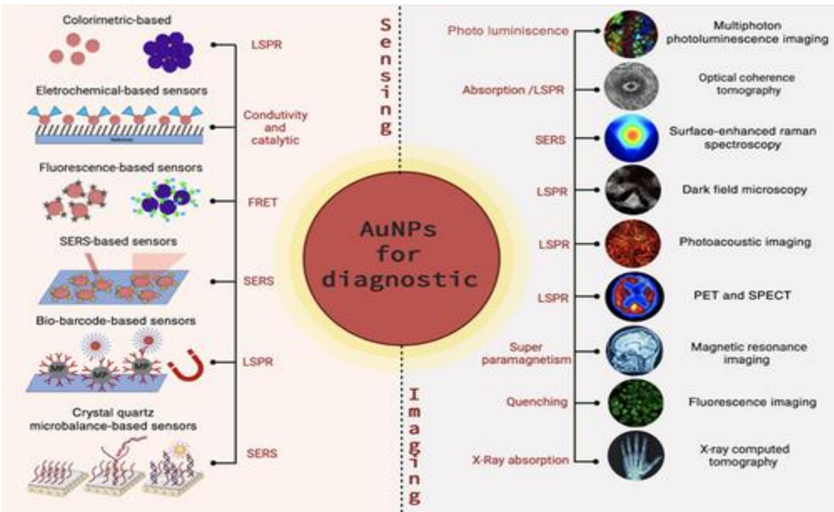
[1] Near-infrared spectroscopy

٤-کاربردهای تشخیصی نانوذرات طلا

همانگونه که اشاره شد، در سال‌های اخیر نانوذرات کروی شکل طلا با داشتن خواص الکترونیک، فیزیکوشیمیایی و نوری ویژه، بسیار مورد توجه دانشمندان در علوم مختلف خصوصا علوم زیستی قرار گرفته‌اند. خواص نوری ویژه این نانوذرات طلا نشأت گرفته از نوسانات پلاسمون سطحی آنها می‌باشد. به‌دلیل سطح متقارنی که این نانوذرات دارند، توزیع الکترون‌های لایه هدایتی بر روی سطح آنها به‌صورت یکنواخت می‌باشد. از این‌رو در برخورد با نور فرودی، یک نوع رفتار از خود نشان خواهند داد. این یکنواختی برخورد با نور سبب ایجاد تنها یک طیف SPR جذبی در ناحیه مرئی خواهد شد. به‌دلیل حساسیت فوق‌العاده بالایی که طیف SPR این نانوذرات به کوچکترین تغییرات رخ داده در محیط اطراف خود دارند، از آنها در علوم مختلف از جمله پزشکی، زیست شناسی و بیوشیمی استفاده زیادی شده است. دو رویکرد اصلی برای تشخیص با استفاده از GNPs بر اساس خواص ذاتی آنها وجود دارد. رویکرد اول استفاده در حسگر زیستی برای شناسایی بیومولکول‌ها و آنالیت‌های کوچک است، که در آن رنگ‌سنجی، فلورسنت، الکتروشیمیایی و SERS نانوذرات طلا، بررسی می‌شود. رویکرد دوم تصویربرداری زیستی است، که در آن از نانوذرات طلا به‌دلیل ضرایب جذب بالای اشعه ایکس و IR و طیف LSPR به‌عنوان کنتراست در عکس‌برداری (برمبنای ویژگی‌های خاموش شدن فلورسنت و SERS نانوذرات طلا) استفاده می‌شود. در شکل ٤ به برخی از کاربردهای تشخیصی این نانوذرات اشاره شده است [۱۸].

٤-۱- کاربرد نانوذرات طلا در حسگر زیستی

از آنجایی‌که GNPs به راحتی می‌تواند با عناصر شناسایی مانند آنتی‌بادی، پروتئین‌ها، الیگونوکلئوتیدها و بیومولکول‌های کوچک کانژوگه شود، بنابراین نقش کلیدی در کاربردهای حسگر زیستی دارند. خواص نوری مرتبط با LSPR نانوذرات طلا باعث ایجاد یک میدان مغناطیسی قوی در سطح نانوذرات و در نتیجه افزایش خواص جذب و پراکندگی آنها می‌شود، که به‌راحتی قابل تنظیم است و منجر به رویکردهای تشخیص و سنجش متفاوت می‌شود.



شکل ٤ کاربردهای تشخیصی نانوذرات طلا [۱۸]

انواع مختلفی از حسگرها ممکن است با تنظیم ویژگی های مختلف نانوذرات طلا ایجاد شوند، زیرا جذب نوری و تغییرات آن، اصلی‌ترین ویژگی برای توسعه حسگرهای زیستی با حساسیت بالا است[١٩و١٨]. در این حسگرها، سنجش زیستی عمدتا براساس رنگ سنجی، فلوریمتری، الکتریکی، الکتروشیمیایی، تشدید پلاسمون سطحی انجام می‌شود.

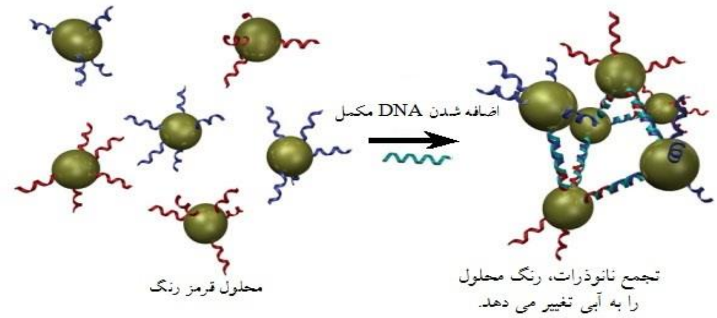
٤-١-١- تشخیص مبتنی بر رنگ‌سنجی نانوذرات طلا

در بسیاری از روش‌های تشخیصی مبتنی بر رنگ‌سنجی می‌توان نتایج حاصل از آزمون را به‌صورت چشمی مشاهده کرد، زیرا این روش ساده، سریع و قابل استفاده برای تشخیص درجا و آنی است. سنجش رنگ‌سنجی مبتنی بر تغییر رنگ قابل مشاهده محلول کلوئیدی نانوذرات طلا است که در اثر تجمع نانوذرات، تغییر اندازه، حلالیت و غیره ایجاد می‌شود. همان‌گونه که پیش تر نیز ذکر شد این نانوذرات قابلیت زیادی در تشخیص انواع مولکول‌ها در حوزه‌های مختلف دارند. همچنین قابلیت استفاده در انواع حسگرهای زیستی را دارا می‌باشند. حسگرهای مبتنی بر رنگ‌سنجی از جمله روش‌های تشخیصی می‌باشند که در راستای قابلیت بالای نانوذرات بکار گرفته شده است. در واقع عمده علت استفاده از این نانوذرات در حسگرهای رنگ‌سنجی، خواص SPR آنها می‌باشد. این حسگرها یکی از امیدوارکننده‌ترین روش‌های تحلیلی برای ارائه روشی سریع، ساده، حساس و مقرون به‌صرفه برای تشخیص آنالیت‌های هدف است. از روش‌های تشخیص مبتنی بر رنگ‌سنجی می‌توان در تشخیص آنالیت‌های مختلف مانند یون‌ها، DNA، پاتوژن‌ها، پروتئین، آنزیم و آمینواسید استفاده کرد (جدول ٣). تجمع GNPs عمدتاً با اتصال لیگاندهای سطحی به آنالیت‌های هدف مرتبط است و هنگامی‌که آنالیت‌های هدف از طریق لیگاند به تعداد زیادی GNPs متصل شود، منجر به تجمع نانوذرات و در نهایت تغییر رنگ می‌شود. در این راستا، GNPs برای تشخیص انسولین در سرم انسانی، هیدروکربن‌های پلی آروماتیک، ملامین در نمونه‌های شیر، سنجش گلوکز و رده‌های سلول سرطان سینه SK-BR-3 استفاده شده است[١٩و١٨].

جدول٣ نمونه‌هایی از تشخیص رنگ‌سنجی پاتوژن‌ها و آنالیت‌ها با استفاده از خاصیت پلاسمون سطحی GNPs.

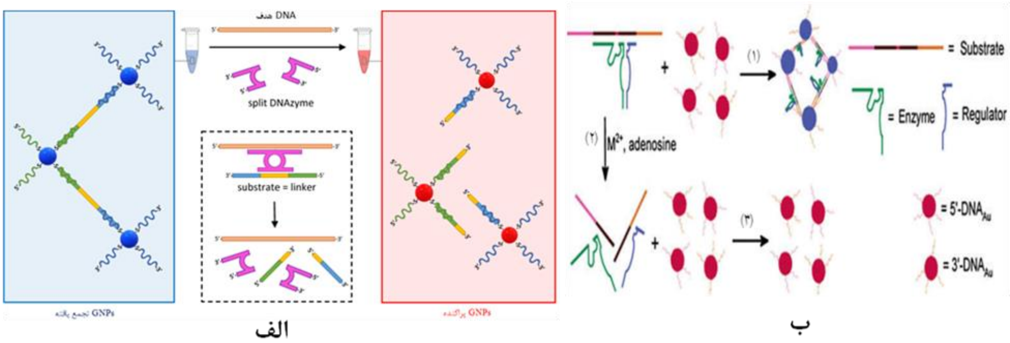
ردیف	محقق	روش تشخیص	استراتژی	عنصر تشخیصی	پاتوژن هدف یا آنالیت	LOD (CFU/mL)	زمان سنجش	منابع
١	دکتر زین الدینی و همکاران	LSPR نانوحسگرها	برهمکنش غیر کووالانسی GNP	آنتی‌بادی مرغی (IgY)	اشرشیاکلی O157:H7	١٠	٢ ساعت	(٢٠)
٢	دکتر زین الدینی و همکاران	LSPR نانوحسگرها	–	آنتی‌بادی-آنتی‌ژن	ویبریوکلراO1	١٠	–	(٢١)
٣	دکتر زین الدینی و همکاران	LSPR نانوحسگرها	برهمکنش کووالانسی آنتی بادی با GNP	آنتی‌بادی مونوکلونال	کورینه باکتریوم دیفتری	١٠	١ساعت	(٢٢)
٤	دکتر طاهری و همکاران	SPR ایمونوحسگرها	برهمکنش کووالانسی- خاصیت پلاسمونیک	آنتی‌بادی	پروتئین سطحی ویبریو کلرا	٤٣	–	(٢٣)

			نانوذرات					
۵	دکتر هوک و همکاران	رزونانس پلاسمون سطحی SPR	اتصال شیمیایی بین گروه آمین پروتئین و گروه های کربوکسیل به‌صورت SAM	آنتی‌بادی مونوکلونال	ویبریوکلرا O1	10^{5}–10^{9}	–	(۲٤)
٦	دکتر عزیزی و همکاران	LSPR نانوحسگرها	کانژوگیشن کووالانسی- خاصیت پلاسمونیک GNPs	آپتامر	متامفتامین	۵۰۰ نانومتر	–	(۲۵)
۷	دکتر کیم و همکاران	LSPR نانوحسگرها	خاصیت پلاسمونیک GNPs	آنتی‌بادی	بیماری آلزایمر	–	–	(۲٦)
۸	دکتر کک و همکاران	LSPR نانوحسگرها	خاصیت پلاسمونیک GNPs	–	رنگدانه ملامین	۳۳ نانومتر	–	(۲۷)
۹	دکتر بسو و همکاران	LSPR نانوحسگرها	خاصیت پلاسمونیک GNPs	آنتی‌بادی –آنتی‌ژن	ویروس دنگی	10^{7}	–	(۲۸)



شکل۵ تجمع هدفمند GNPs با استفاده از خاصیت هیبریداسیون دورشته‌ای DNA [۲۹]

در سال‌های اخیر تشخیص اولیگونوکلئوتیدها توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است، زیرا این مولکول‌ها دارای کاربردهای فراوانی در تحقیقات پزشکی، صنایع دارویی و غذایی می‌باشند. اصول این پژوهش‌ها عمدتاً بر پایه هیبریداسیون دو رشته می‌باشد (شکل ۵). به‌دلیل سادگی و کارایی بالای فعال کردن سطح GNPs با استفاده از این توالی‌های اسید نوکلئیکی طی دهه گذشته تحقیقات بسیاری در این زمینه انجام شده است. در اینجا به برخی از پژوهش‌های انجام شده اشاره خواهد شد. با توجه به اینکه ماده ژنتیک همه موجودات از DNA تشکیل شده، نقش این ماده در تحقیقات دارویی و تشخیصی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. امروزه سامانه‌های تشخیصی زیادی با ترکیب دقت و حساسیت GNPs و اسیدهای نوکلئیک، برای افزایش کیفیت تشخیص و نیز بالا بردن میزان حساسیت آن به کار گرفته شده است.

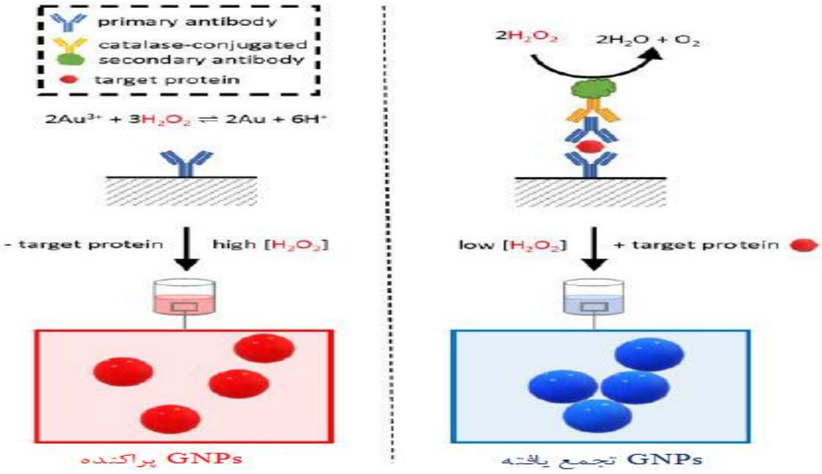


شکل٦ (الف) تشخیص اهداف DNA خاص مبتنی بر استفاده از هیبریداسیون DNAزیم‌های فعال (۳۰)، (ب) حسگر زیستی بر پایه آپتازیم جهت تشخیص آدنوزین. در مرحله ۱ در عدم حضور آدنوزین، DNAzyme با داشتن رشته های مکمل بر روی GNPs سبب تجمع آنها می‌شود و رنگ از قرمز به بنفش تغییر می‌کند. در مرحله ۲ با حضور آدنوزین، ساختار DNAzyme بهم خورده و نانوذرات به‌صورت محلول (قرمز) باقی می‌مانند (مرحله ۳) [۳۱]

روش دیگر برای تشخیص الیگونوکلئوتیدها، استفاده از هیبریداسیون DNAzymes فعال است، که به‌عنوان کاتالیزور پیوند substrate-linker که GNPs را در کنار یکدیگر نگه داشته است، برش می‌دهند و آنها را پراکنده می‌کنند و باعث تغییر رنگ محلول به قرمز می‌شوند. DNAzymes، آنزیم‌های DNA مصنوعی هستند که توانایی جدا کردن مولکول‌های DNA از یکدیگر را دارند (شکل ٦-الف). با استفاده از این روش، شناسایی DNAپاتوژن‌های باکتریایی، ویروسی و انگلی با حساسیت ۵۰ پیکومولار گزارش شده است[۳۰]. در مطالعه دیگر، لی و همکاران[1] در مطالعات خود دریافتند که اولیگونوکلئوتیدهای تک رشته و دو رشته تمایل کاملا متفاوتی در اتصال به GNPs دارند. از آنجایی که رنگ GNPs با خاصیت SPR آنها و نیز حالت تجمع آنها تعیین می‌شود، می‌توان با استفاده از تفاوت‌های الکتروستاتیک تک رشته DNA و دو رشته DNA حسگر زیستی راحت تری طراحی کرد. لیو و همکاران[2] نیز مطابق شکل ٦-ب)، توانستند با استفاده از سرهم شدن نانوذرات طلا با کمک DNAzymes به طراحی یک حسگر زیستی با کارآیی بالا و موثر جهت تشخیص آدنوزین بپردازند[۳۲و۳۱].

پروتئین‌ها مهمترین عامل در اکثریت فرایندهای مهم زیستی در موجودات زنده می‌باشند. شناسایی این مولکول‌ها در درجه اهمیت بالاتر از هر مولکول دیگری در موجودات زنده قرار دارد. پروتئین‌ها به‌دلیل بار سطحی که دارند قادرند بر روی سطح GNPs متصل شوند و از آنها برای بسیاری از کارها از جمله تشخیص پروتئین‌های دیگر استفاده شود. اولین سنجش پروتئین فوق حساس مبتنی بر GNPs با هدف شناسایی آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) انجام شد. برای شناسایی PSA، آنتی‌بادی‌های مخصوص تثبیت‌شده روی GNPs را با کدگذاری پروب‌های GNPs با استفاده از بارکدهای DNA تثبیت‌شده ترکیب کردند. در حضور PSA در نمونه آنالیز شده، بارکدهای DNA حفظ شده به‌صورت مغناطیسی روی GNPs را می‌توان با هیبریداسیون سطحی که با DNA مکمل بارکدها (حساسیت ۳۰ اتومولار) عامل‌دار شده است یا PCR (حساسیت ۳ اتومولار)، شناسایی کرد (شکل ۷) [۳۰].

[1] Huixiang Li
[2] Juewen Liu



شکل٧ سنجش پروتئین فوق حساس مبتنی بر GNPs با هدف شناسایی آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) [٣٠].

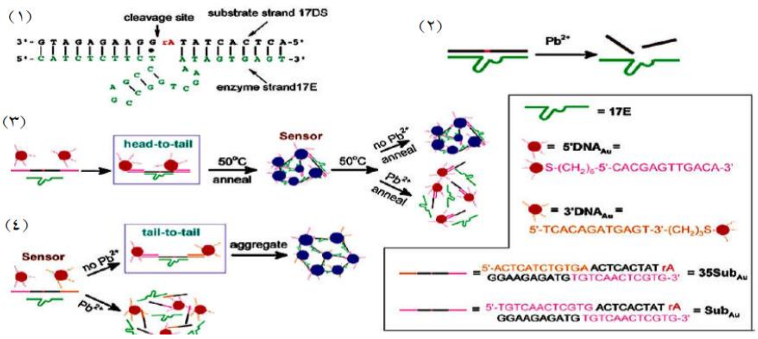
در مطالعه‌ی دیگر، ثان[1] و همکاران طراحی و تولید یک سامانه سنجش زیستی (ایمونواسی) بر پایه آنتی‌بادی-GNPs را ارائه دادند. در این آزمون GNPs فعال شده با آنتی‌بادی در حضور آنتی‌ژن مخصوص خود تجمع می یابند. تجمع GNPs موجب تغییر در جذب آنها شده که به راحتی توسط دستگاه خوانش پلیت قابل ثبت بود. برای بررسی توان این روش، نانوذرات پوشیده شده توسط پروتئین A، جهت تعیین سطح آنتی‌بادی این پروتئین در سرم مورد استفاده قرار گرفتند. دقت تشخیص دو برابر حالت معمول تشخیص بود و با حساسیت یک میکروگرم در میلی لیتر آنتی‌پروتئین A مشاهده شد. اگرچه سامانه‌های تشخیص پروتئین بر پایه GNPs هنوز به آن مرحله از سادگی و قیمت تمام شده پایین نرسیده است که بتوان از آنها به‌طور وسیع در سامانه‌های تشخیصی استفاده کرد، اما روند رو به رشد و پیشرفت چشمگیر حاصل شده از مسیر این تحقیقات نویدبخش آینده خوب و سامانه‌های تشخیص پروتئین بر پایه GNPs می‌باشد[٣٤و٣٣].

همچنین، توسعه حسگرهای دقیق و با حساسیت بالا برای تشخیص درجا و آنیون‌های سمی مانند سرب، کادمیوم، جیوه و سلنیوم در صنعت، محیط زیست و سم شناسی بالینی بسیار حایز اهمیت می‌باشد. به‌طور معمول یک حسگر کالریمتریک ساده به دلیل کاهش چشمگیر هزینه و سامانه تشخیصی قابل حمل قابل ترجیح می‌باشد.

در یک مطالعه لیو[2] و همکاران سامانه تشخیص یون سرب بر پایه تجمع نانوذرات طلا را با استفاده از DNAzyme وابسته به سرب طراحی کردند (شکل ٨). علیرغم وجود مشکل گرمادهی-سرمادهی برای مشاهده نتایج آزمایش در این سامانه، اما همین گروه مدتی بعد گزارش دادند که یک حالت پیشرفته‌تر از حسگر سرب را طراحی کرده‌اند که به آنها اجازه می‌دهد یون‌های سرب را سریع و در دمای اتاق شناسایی کنند. این بهبود عملکرد حسگر بر اساس اتصال نانوذرات در تمامی جهات می‌باشد و نیز اندازه نانوذره یک فاکتور کلیدی در این سامانه تشخیصی است. نتایج حاصله موجب ایجاد درک عمیقی از بیوشیمی DNAzyme و فناوری GNPs برای بهبود حسگرهای کالریمتریک شد[٣٦و٣٥].

[1] Nguyen Thi Kim Thanh

[2] Juewen Liu

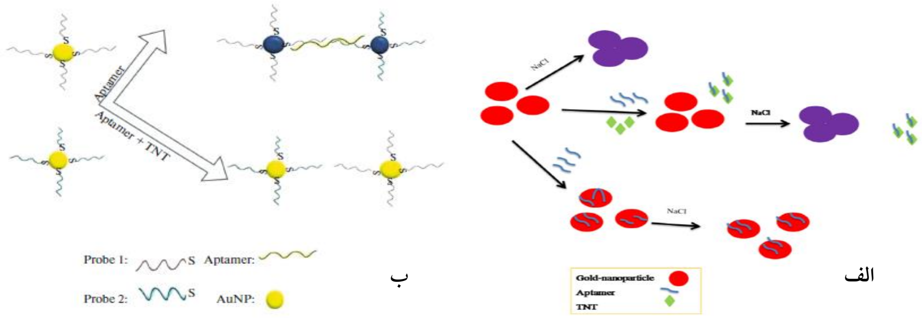


شکل۸ اساس تشخیص سرب بر پایه GNPs [۳٦و۳۵]

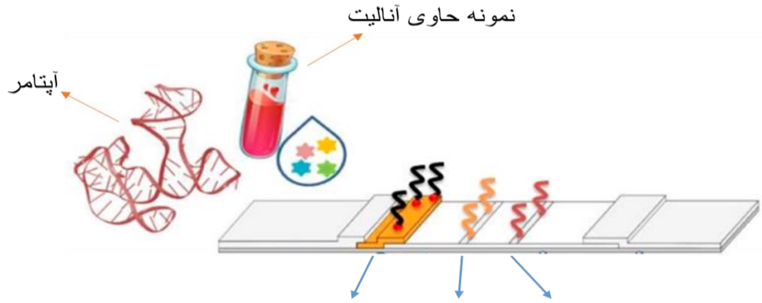
از سـوی دیگـر ترکیبـات نیتروآروماتیـک از جملـه مـواد شیمیایی مهم دیگری می‌باشند که کاربردهـای وسـیعی در صـنایع داروسـازی، پلاسـتیک، رنگ‌هـا، حشـره‌کش‌هـا و نظـامی دارنـد. هنگـامی کـه ایـن ترکیبـات وارد محـیط می‌شوند، آلودگی‌های زیادی را به محیط زیسـت تحمیـل می‌کنند. ترکیبـات نیتروآروماتیـک حتـی در غلظـت‌هـای پایین، می‌توانند خطر بسیار زیادی برای سـلامت عمـومی داشه باشند. معمولا ترکیبات نیتروآروماتیک بـا اسـتفاده از روش‌های مبتنی بر HPLC شناسایی می شوند[۳۷]. امـا از آنجایی که این روش‌ها گران و زمان‌بر هستند، محققین بـه فکـر روشـی جدیـدتر جهـت شناسـایی آنهـا هسـتند. در سال‌های اخیـر روش‌هـای تشخیصـی بـر پایـه GNPs بـه منظور تشخیص این ترکیبات توسعه یافته‌اند[۳۸]. به‌عنوان مثال داساری[1] و همکاران با استفاده از یک روش بـر پایـه GNPs مولکول تری نیترو تولوئن (TNT) را با اسـتفاده از اسپکتروسکوپی رامان تشخیص دادند[۳۹]. مولکول TNT مهمترین ماده منفجره با قابلیت نظـامی اسـت کـه بـه‌طور معمول پس از عملیات جنگی مهمترین دغدغه جهت پاک کردن آن وجود دارد. در ایـن روش GNPs بـا اسـتفاده از سیستئین فعال شدند. در صـورت حضـور سیسـتئین ایـن نانوپروب‌ها با آن واکنش می‌دهند و موجب تجمع GNPs خواهد شد. همچنین، دکتر زین الدینی و همکاران با بهـره بردن از خواص آپتاحسگرهای بـر پایـه نـانوذرات کـروی شکل طلا به دو روش کالریمتریک بـه شناسـایی مولکـول TNT پرداختنـد. در روش اول پـس از سـنتز GNPs و بـا اتصال فیزیکی مولکول‌هـای آپتـامر از جـنس DNA تـک رشته، مولکول TNT را با حساسیت در حد ۱۵ نـانومولار و نیز اختصاصیت تشخیصی بـالا به‌صـورت کالریمتریـک تشخیص دادند (شکل ۹– الف) [٤۰].

در روش دوم بـا مـورد توجـه قـرار دادن خاصـیت هیبریداسیون دو رشته‌ای مولکول آپتـامر بـا تـوالی مکمـل خـود بـه شناسـایی TNT پرداختنـد (شـکل ۹– ب). به‌طوری‌که پرایمرهای سر '۵ و '۳ آپتامر به‌صورت کـوالان بر روی سطح نانوذرات کروی شکل طلا متصل می‌شـوند. در صورت وجود آپتامر در محیط، نانوپروب‌های طـلا بـه هـم متصـل می‌شـوند. ایـن اتصـال نانوپروب‌هـا موجـب نزدیک شدن آنها به یکدیگر و تغییـر خاصـیت SPR آنهـا شده، علاوه بر ایـن رنـگ GNPs تغییـر خواهـد کـرد. در صـورت وجـود مولکـول TNT در محـیط، مولکول‌هـای آپتامر به جای اتصال به سطح نانوپروب‌های طلا و نزدیک کردن آنها به یکـدیگر، بـه مولکـول هـدف خـود متصـل می‌شوند. این عدم تجمع نانوپروب‌هـای طـلا در حضـور آپتامر تنها زمانی رخ می‌دهد که مولکـول TNT در محـیط باشد. نتایج نشان می‌دهد که آپتاحسگر تولید شده می‌تواند مولکول TNT را با ویژگی بالا (حد تشخیص ٦ پیکومول) تشخیص دهد [٤۱].

[1] Ramachandra Rao Dasari



شکل۹ (الف) شناسایی مولکول TNT با روش رنگ‌سنجی (٤۰)، (ب) شناسایی مولکول TNT با مورد توجه قرار دادن خاصیت هیبریداسیون دو رشته‌ای مولکول آپتامر با توالی مکمل خود [٤۱].



شکل۱۰ تصویری از سنجش جریان جانبی. حرکت یک نمونه و GNPs دارای برچسب آپتامر در سراسر نوار بیانگر نتیجه مثبت یا منفی آزمون است[۱۸].

در کنار این نوع سامانه‌ها، سنجش‌های زیستی (ایمونواسی) جریان جانبی نیز نوعی از حسگرهای رنگ‌سنجی هستند که کاربرد گسترده‌ای در زمینه تشخیصی برای شناسایی ساده و سریع آنالیت‌ها دارند. سنجش جریان جانبی[1] (LFA) انجام شده بر روی بسترهای کاغذی، که از GNPs به‌عنوان نشانگر رنگی استفاده می‌کنند، برای تشخیص مولکول‌های زیستی و آلاینده‌های شیمیایی استفاده می‌شود. از جمله این موارد می‌توان به تشخیص عوامل عفونی، نوکلئیک اسیدها، پروتئین‌ها، سلول‌ها، باکتری‌ها، داروهای دامپزشکی، سموم و حشره‌کش‌ها اشاره کرد [٤۲]. این حسگرها وجود یا عدم وجود یک هدف در یک آنالیت نمونه را تشخیص می‌دهند. آنالیت‌ها و کیت تشخیصی روی یک نوار غشایی سوار شده است[٤۳]. نمونه‌ی هدف تشخیص، از طریق حرکت مویرگی روی غشاهای عملکردی مختلف جریان پیدا می‌کند. فیبر سلولزی (به‌عنوان مثال نیتروسلولز) دارای یک پد جاذب برای کنترل انتقال نمونه است که می‌تواند برای کاهش اتصال غیراختصاصی با تغییر در pH اصلاح شود. آنتی‌بادی‌ها در سراسر غشاء تثبیت می‌شوند و به طور معمول از دو خط مجزا، خط کنترل داخلی (C) و خط آزمایش (T) تشکیل شده است (شکل ۱۰).

خواص نوری منحصر به‌فرد نانوپروب‌های طلا، یعنی وجود رنگ قرمز قوی، در طیف وسیعی از کاربردهای LFA نظیر تشخیص زیست پزشکی (همچون تشخیص ترومبین و فسفولیپاز – A_2 انسانی در سرم، آزمایش

[1] Lateral flow assay

بیماری‌های عفونی) بررسی شده است. به‌عنوان مثال تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد ترپونماپالیدوم (Tp) عامل سیفلیس، HIV 1/2، تشخیص تتراسایکلین در نمونه‌های غذا، ایمنی آب و اخیراً در آزمایش SARS-CoV-2 که به‌دلیل همه‌گیری بیماری کووید ۱۹در بازار در حال رشد هستند. علاوه‌براین، LFA ها جایگزینی سریع، حساس، قوی، کاربر پسند، مقرون به صرفه و قابل حمل برای آزمایش بالینی استاندارد هستند[۱۸].

٤-١-٢- تشخیص مبتنی برفلورسانس نانوذرات طلا

حسگرهای مبتنی بر فلورسانس از ویژگی خاموش‌کنندگی GNPs بر روی فلوروفورهایی که در مجاورت سطح آنها قرار گرفته‌اند استفاده می‌کند. این اثر عمدتاً توسط انتقال انرژی رزونانس فورستر[1] (FRET) بین سطح فلز و فلوروفور انجام می‌شود. حسگر FRET با کمک GNPs برای تشخیص کلسترول در سرم خون از طریق عامل‌دار کردن GNPs با β-سیکلودکسترین به‌کار گرفته شده است. شدت فلورسانس متناسب با غلظت کلسترول در محدوده ی بین ۳۰ نانومولار و ۱۵ میکرومولار افزایش می‌یابد، به طوری‌که امکان تعیین کمیت آنالیت هدف با حساسیت بالا تا غلظت ۹ نانومولار را فراهم می‌کند. در میان تمام NPs، کوانتوم دات‌ها (QD) به‌دلیل خواص عالی خاموش کنندگی فلورسانس آنها، شناخته شده‌اند. در واقع پروب‌های مبتنی بر QD عمدتاً برای تصویربرداری سرطان در شرایط in vivo ساخته می‌شوند. تاکنون تنها دو نمونه از سنجش مبتنی بر فلورسانس از جمله GNPs و QD برای تصویربرداری در شرایط in vivo از مولکول‌های زیستی استفاده شده است[۱۹و۱۸]. در مطالعه‌ای که انجام شد، یک آپتاحسگر فلورسنت جدید برای روشن کردن فلورسنت تشخیصی آمپی‌سیلین (AMP) بر پایه نقاط کوانتومی CdTe (QDs) به‌عنوان فلوروفور و نانوذرات طلا (Ag NPs) به‌عنوان خاموش‌کننده پیشنهاد شد. انتهای '۳ آپتامر AMP با نانوذرات طلا از طریق پیوند Au-S و انتهای '۵ رشته مکمل (cDNA) آپتامر با CdTe QDs اصلاح شد. با توجه به هیبریداسیون رشته‌ی مکمل DNA، QDs فلورسانس توسط نانوذرات طلا خاموش شد. در حضور AMP، Cdna اصلاح شده توسط QDs از زنجیره آپتامر جدا شد و سپس افزایش شدت فلورسانس (FL) به‌دلیل ظرفیت اتصال قوی‌تر AMP و آپتامر مشاهده شد. روش توسعه‌یافته محدوده خطی خوبی بین ۰,۰٤-۲۰ میکرومولار و حد تشخیص ۱۸ نانومتر برای تشخیص AMP نشان داد. علاوه بر این، روش تحلیلی پیشنهادی برای تشخیص AMP در نمونه‌های شیر با میزان بازیابی ۸۸/٤ - ۹۰ درصد استفاده شد [٤٤].

٤-١-٣- تشخیص مبتنی بر حسگر الکتریکی و الکتروشیمیایی نانوذرات طلا

حسگرهای الکتریکی و الکتروشیمیایی از رسانایی، مساحت سطح بالا و خواص کاتالیزوری GNPs استفاده می‌کنند. GNPs به‌ویژه در این نوع حسگرها برای اتصال آنزیم به سطوح الکترود، در واکنش‌های واسطه الکتروشیمیایی به‌عنوان کاتالیزورهای ردوکس و همچنین تقویت‌کننده سیگنال‌های تشخیص برای فرایندهای بیولوژیکی استفاده می‌شوند[۱۸].

٤-١-٤- تشخیص مبتنی بر حسگر پراکنش رامان تشدید شده سطحی نانوذرات طلا

حسگرهای مبتنی بر پراکنش رامان تشدید شده سطحی[2] (SERS) به پراکندگی غیرالاستیک فوتون‌ها که توسط GNPs به واسطه سطح ارتعاشی کوانتیزه شده وابسته است و سبب تقویت سیگنال طیفی نمونه می‌شود. GNPs به‌طور معمول در حسگرهای SERS به‌عنوان پروب‌های درون سلولی برای ردیابی رهاسازی دارو، تصویربرداری از تومورهای کوچک، تشخیص سلول‌های تومور از

[1] Forster Resonance Energy Transfer

[2] Surface-Enhanced Raman Scattering

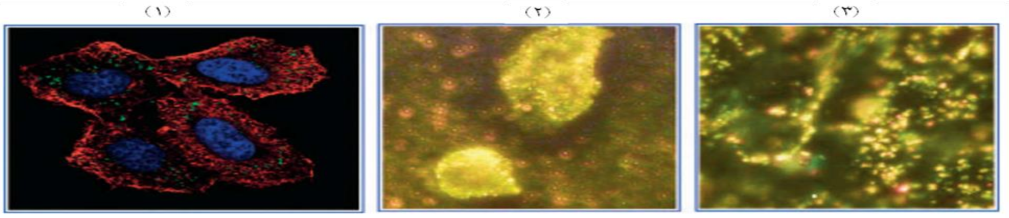
سلول‌های سالم، نظارت بر متابولیسم تومور و همچنین برای هدف قرار دادن نشانگرهای تومور خاص و بخش های سلولی مانند هسته، میتوکندری و اندوزوم‌ها استفاده می‌شوند. چندین آزمایش بالینی با هدف ارزیابی پتانسیل SERS برای تشخیص بیومارکر بیماری و تشخیص انجام شده است. با توجه به نتایج منتشر شده از دو مطالعه نشان می‌دهد که SERS دارای حساسیت ۸۰/۷ درصد و اختصاصیت ۸۴/۱ درصد در تشخیص کارسینوم سلول سنگفرشی دهان توسط تجزیه‌وتحلیل نمونه‌های خون است[۱۸].

۴-۱-۵- حسگر میکروبالانس کریستال کوارتز مبتنی بر GNPs

سنجش میکروبالانس GNPs کریستال کوارتز، به مساحت سطح بالای GNPs برای افزایش حساسیت تشخیص وابسته است. میکروبالانس کریستال کوارتز (QCM) یک حسگر جرمی ساده، حساس و بدون برچسب است که در آن فرکانس نوسان کریستال کوارتز با بارگذاری جرم بر روی سطح کریستال به‌صورت خطی کاهش می‌یابد. GNPs به‌طور معمول به سطح حسگر متصل هستند و به‌عنوان تقویت‌کننده سیگنال عمل می‌کنند. ویژگی‌های به صرفه QCM، به کاربرد آن در تشخیص آنالیت‌های مختلف مانند سلول‌ها، متیلاسیون DNA، پلی مورفیسم نوکلئوتید تک رشته، پاسخ‌های سلولی به محرک‌ها و تشخیص ویروس کمک کرده است. این نوع حسگر با موفقیت گلیکوپروتئین‌های غشای سلولی را درجا شناسایی می‌کند و فرصت جدیدی برای تشخیص زود هنگام سرطان ارائه می‌دهد [۱۸].

۴-۲- کاربرد نانوذرات طلا در تصویر برداری زیستی

با استفاده از کانژوگه GNPs – آنتی‌بادی یا GNPs –آپتامر می‌توان به‌صورت زنده در داخل سلول‌ها را با دقت به کمک یک نانوذره مشاهده کرد (شکل ۷). این اتفاق با استفاده از سامانه های تصویربرداری کانفوکال لیزر میکروسکوپ امکان‌پذیر می‌باشد. البته میکروسکوپ زمینه تاریک با دقت خیلی بالا نیز یکی از مهمترین روش‌ها در تصویربرداری زیستی با استفاده از GNPs می‌باشد [۴۵]. در واقع تمام استفاده‌های مهندسی شده و با کارآیی بالا برای GNPs، به‌دلیل اتصال یک عامل دوم (مانند آنتی‌بادی یا آپتامر) برای بهبود کیفیت تشخیص می‌باشد. تاکنون GNPs با موفقیت در پراکندگی رزونانس میکروسکوپ زمینه تاریک برای تشخیص سلول‌های میکروبی و متابولیت‌های آنها، تصویربرداری زیستی سلول‌های تومور و نیز مطالعه آندوسیتوز استفاده شده‌اند. البته در زمینه‌های جدیدی تحت عنوان بیوفوتونیک نیز حضور فعال و در حال گسترده‌ای را دارا می‌باشند.



شکل۷ استفاده از GNPs برای تصویربرداری. (۱) تصویر کانفوکال سلول‌های هلا (۲) سلول‌های سالم (۳)) سلول‌های حاوی نانوذره متصل به آنتی‌بادی اختصاصی EGFR[1] [۴۵].

[1] Epidermal growth factor receptor

در واقع GNPs به‌دلیل ویژگی‌های نـوری خـود در انـواع مختلف سیستم‌های عکس‌برداری و تصویربرداری زیسـتی مورد توجه قرار گرفته‌اند. تصـویربرداری فوتولومینسـانس چند فوتونی، توموگرافی وابسـتگی نـوری، طیـف‌سـنجی رامان تقویت‌شـده سـطح، میکروسـکوپ میـدان تاریـک، تصویربرداری فوتوآکوستیک، تصـویربرداری فلورسـانس، انتشار پوزیترون، تومـوگرافی کـامپیوتری بـا انتشـار تـک فوتون، تصویربرداری رزونانس مغناطیسـی و تومـوگرافی کامپیوتری اشعه ایکس، از جمله این موارد است [٤٦]. در جـدول ٤ بـه‌صـورت خلاصـه نمونـه‌های از کاربردهـای GNPs در تصویربرداری زیستی آورده شده است.

جدول٤ نمونه‌هایی از کاربرد GNPs در تصویربرداری زیستی و ویژگی‌های مربوط به آنها [١٨]

روش تشخیص	کاربرد	نوع GNPs	ویژگی‌ها	هدف	مثال‌ها
تصویربرداری زیستی	تصویربرداری رزونانس مغناطیسی	نانوپوسته‌ها، نانومیله‌ها و نانو ستاره‌ها	وضوح فضایی بالا، کنتراست تصویربرداری قابل توجه	بافت، سلول‌ها، رگ‌های خونی	ترکیبات-AuNP-Gd TAT در مقایسه با کلات GD^{3+}، تشخیص حساس سلول‌های سرطانی را نشان می‌دهند. تصویربرداری CT و MRI دو حالته توسط نانوپوسته‌های lectin- Fe_2O_3@Au برای ردیابی سلول‌های سرطان کولورکتال در داخل بدن.
	توموگرافی کامپیوتری اشعه ایکس	نانوپوسته‌ها، نانومیله‌ها	وضوح فضایی بالا (mm) اسکن طول موج چندگانه، زمان اسکن کوتاه	بافت، سلول‌ها، رگ‌های خونی	GNPs -PEI کانژوگه با اسید فولیک (FA) به‌عنوان نانوپروب می‌تواند تصویربرداری CT از تومور بیگانه‌گرافت موش با بیان بیش از حد گیرنده‌های FA را تقویت کند.
	توموگرافی گسیل پوزیترون و توموگرافی کامپیوتری با گسیل تک فوتون	نانوپوسته‌ها، نانومیله‌ها و نانوکره‌ها	حساسیت بالا، وضوح فضایی پایین عدم وجود مرجع تشریحی	بافت، سلول‌ها، رگ‌های خونی	تشخیص تومورهای ریه توسط نانوذرات هیبریدی سیلیس مزوپور طلا/ مزوپور در مدل‌های موش سرطانی نشاندار شده با مس. هدف‌گیری خاص CCR5 توسط GNPs دوپ‌شده با Au عامل‌دار شده با PEG به‌عنوان یک بیومارکر پیش آگهی خوب برای پیشرفت سرطان سینه.
	تصویربرداری فوتو آکوستیک	نانوپوسته‌ها، نانومیله‌ها	وضوح فضایی بالا، GNPs در فرکانس LSPR پراکنده می شوند، زمان اسکن کوتاه	بافت، سلول‌ها، رگ‌های خونی	هدف گیری سلولی انتخابی با کانژوگیشن آنتی بادی با GNPs (به‌عنوان مثال EGFR) تجسم محل تومور و مرزهای برش توسط

					نانومیله‌های طلا که با PEG عامل‌دار شده‌اند.
	تصویربرداری فلورسانس	نانوپوسته‌ها، نانومیله‌ها و نانوکره‌ها	وضوح فضایی بالا، ردیابی سلولی، زمان اسکن کوتاه، نفوذ بافتی ضعیف	بافت، سلول‌ها، رگ‌های خونی، بیومولکول‌ها	GNPsچند منظوره برای هدف قرار دادن سلول‌های سرطانی خاص می‌توانند شدت فلورسانس NIR را در مناطق تومور افزایش دهند.
	میکروسکوپ میدان تاریک	نانومیله‌ها و نانوکره‌ها	جذب سلولی نانوذرات GNPs در فرکانس LSPR پراکنده می شوند.	سلول‌ها، بیومولکول‌ها	تشخیص آنتی بادی های Anti-CD44 و Anti-EGFR با استفاده از تصاویر سه بعدی میدان تاریک
	توموگرافی همبستگی نوری	نانوپوسته‌ها و نانومیله‌ها	وضوح فضایی بالا، تداخل سنجی همبستگی پایین، استفاده از GNPs در مناطق NIR و دورتر- IR	بافت، سلول‌ها، رگ‌های خونی	تصویربرداری سلول‌های قلبی عروقی با استفاده از نانوپوسته‌های طلا به‌عنوان مواد کنتراست. PEG- GNPs عامل‌دار شده می‌توانند عروق کوچک شبکیه و مشیمیه را در خرگوش‌های زنده بررسی کنند و هیچ سمیت سلولی را نشان نمی دهند.
	تصویربرداری فوتولومینسانس چند فوتونی	نانوپوسته‌ها و نانومیله‌ها	اسکن تصاویر با نور با طول موج بلند، فوتولومینسانس جذب سلولی	بافت، سلول‌ها، رگ‌های خونی	مرکاپتوندکانوئیک اسید پوشش داده شده با GNPs می‌تواند تصویربرداری زیست پزشکی چندوجهی را برای وضوح بهتر در مطالعات in vivo ارائه دهد.

۵- نتیجه‌گیری

در میان تمام نانومواد تازه کشف‌شده‌ای که قرار است تأثیر چشمگیری بر آینده پزشکی بگذارند، کاربردهای تشخیص مولکولی، تصویربرداری و سنجش زیستی GNPs، به‌طور گسترده مورد توجه قرار گرفته است. GNPs دارای چندین مزیت از جمله سنتز آسان، اندازه و شکل قابل تنظیم و خاصیت جذب و پراکندگی فوق العاده است. همچنین، آنها می‌توانند به‌دلیل حلالیت در آب، پایداری، هدف‌پذیری خاص و زیست سازگاری به‌طور خاص از طریق روش‌های مهندسی سطح مختلف برای بهبود ویژگی تشخیصی و ادغام با سایر نانومواد و ساختارهای پیچیده‌تر، طراحی شوند. درک پتانسیل توانایی دستکاری GNPs، طیف وسیعی از امکانات برای سیستم‌های بالینی، از جمله تشخیص زود هنگام سرطان و غربالگری سریع را باز می‌کند. در همه‌گیری کووید- ۱۹ استفاده از GNPs در روش‌های ایمونواسی جریان جانبی، امکان دستیابی به

تشـخیص فـوری ویـروس را در نمونـه‌های بیولـوژیکی پیچیده فراهم کرده است. این تست‌های نـواری کـه تـأثیر فوق‌العاده‌ای بر نحوه کنترل همه‌گیری و غربالگری مناسب آن داشته است، کاربرد منحصـر بـه‌فرد GNPs در طراحـی کیت های تشخیصی سریع را به جامعه علمی اثبات کـرده است. درنتیجـه ایـن نـامومواد دارای ارزش زیـادی بـرای کاربرد در تشخیص مواد زیسـتی و اهـداف تشخیصـی از جمله سنجش مولکولی، تصویربرداری نوری و کـاربرد در قالـب حسـگرهای زیسـتی قابـل حمـل و سـاده (ماننـد سنجش‌های ایمنی جریان جـانبی کـه بـه‌طور گسـترده در طول همه‌گیری کووید-۱۹ مورد استفاده قرار گرفته‌اسـت) مـی باشـد. همچنـین، می‌تـوان از GNPs در تشـخیص میکروارگانیسـم‌هـای مسـبب آلـودگی در آب، هـوا و موادغذایی اسـتفاده کـرد و پیوسـته جـایگزین روش‌هـای شیمیایی و فیزیکی مرسوم شـوند. فنـاوری نـوینِ حسـگر زیستی مبتنی بـر نـانوذرات می‌تواننـد شناسـایی ترکیبـات زیستی و شیمیایی را به‌طور دقیق و سریع انجام دهند. این فنـاوری قـادر اسـت در کمتـرین زمـان ممکـن میـانکشِ بیومولکولی بر روی سطح نانوذرات، را کمی‌سازی نمایـد. فقدان روش‌های ساخت بسیار تکرارپذیر و قابـل اعتمـاد، مطالعه مکانیسم‌های متابولیـک، رفتـار دینـامیکی نـانومواد عملکردی مختلف، و بررسی اثرات دراز مدت نانومواد بر سلامتی و همچنـین اثـرات آن بـر محیط‌زیسـت از دیگـر محدودیت‌هایی است که باید در مورد آنها بیشـتر مطالعـه انجام شود. همه این ایرادات واقعاً باید بـه سـرعت مـورد توجه قرار گیرند تا بتوان مزایای مناسب نانوکمپلکس‌هـای طلا را به درستی مشـخص کـرد و کیـت‌هـای تشخیصـی مبتنی برGNPs بتوانند جایگزین روش‌های مرسوم شود. با این وجود، استفاده از این نانوکانژوگه‌های طـلا در سـامانه های رهایش برای استفاده گسترده در داخل بدن همچنـان به‌دلیل پایداری طولانی‌مدت در ارگانیسم، نگرانی مربـوط به سمیت بالا و مسائل زیست سـازگاری دارای اشـکالات جدی است. با این‌حال، تلاش عظیمـی کـه در پروژه‌هـای تحقیقـاتی بین‌رشـته‌ای انجـام می‌شـود، بـه‌زودی باعـث افزایش سطح آمادگی فنی روش‌های تشخیصی مبتنی بـر GNPs می‌شود، به‌طوری‌که منجر به استفاده مؤثر برخی از آنها در آزمون‌های کلینیکی خواهد شد. هنگـامی کـه ایـن روش‌ها تأثیر موفقیت‌آمیزی بر استاندارد مراقبت بگذارنـد، سنجش‌های مبتنی بر GNPs می‌تواند پیشرفت‌های زیـادی در تشخیص و تصویربرداری بالینی داشته باشند.

٦- منابع

[1] Jain, P.K., Huang, X., El-Sayed, I.H., El-Sayed, M.A. (2007) Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to biosystems. *Plasmonics*.2, 107-18.

[2] Amendola, V., Pilot, R., Frasconi, M., Maragò, O.M., Iatì, M.A. (2017) Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review. *Journal of Physics: Condensed Matter*.29(20), 203002.

[3] Yeh, Y-C., Creran, B., Rotello, V.M. (2012) Gold nanoparticles: preparation, properties, and applications in bionanotechnology. *Nanoscale*.4(6), 1871-80.

[4] Daraee, H., Eatemadi, A., Abbasi, E., Fekri Aval, S., Kouhi, M., Akbarzadeh, A. (2016) Application of gold nanoparticles in biomedical and drug delivery. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*.44(1), 410-22.

[5] Baptista, P., Pereira, E., Eaton, P., Doria, G., Miranda, A., Gomes, I. (2008) Gold nanoparticles for the development of clinical diagnosis methods. *Analytical and bioanalytical chemistry*.391, 943-50.

[6] Pines, D., Bohm, D. (1952) A collective description of electron interactions: II. Collective vs individual particle aspects of the interactions. *Physical Review*.85(2), 338.

[7] Kelly, K.L., Coronado, E., Zhao, L.L., Schatz, G.C. (2003) The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment. *ACS Publications*. p. 668-77.

[8] Willets, K.A., Van Duyne, R.P. (2007) Localized surface plasmon resonance

spectroscopy and sensing. *Annu Rev Phys Chem*.58, 267-97.
[9] Motl, N., Smith, A., DeSantis, C., Skrabalak, S. (2014) Engineering plasmonic metal colloids through composition and structural design. *Chemical Society Reviews*.43(11), 3823-34.
[10] Cheng, H-P., Chuang, H-S. (2019) Rapid and sensitive nano-immunosensors for botulinum. *Acs Sensors*.4(7), 1754-60.
[11] Balbinot, S., Srivastav, A.M., Vidic, J., Abdulhalim, I., Manzano, M. (2021) Plasmonic biosensors for food control. *Trends in Food Science & Technology*.111, 128-40.
[12] Lin, Z., He, L. (2019) Recent advance in SERS techniques for food safety and quality analysis: A brief review. *Current Opinion in Food Science*.28, 82-7.
[13] Marin, M., Nikolic, M.V., Vidic, J. (2021) Rapid point- of- need detection of bacteria and their toxins in food using gold nanoparticles. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.20(6), 5880-900.
[14] Storhoff, J.J., Lazarides, A.A., Mucic, R.C., Mirkin, C.A., Letsinger, R.L., Schatz, G.C. (2000) What controls the optical properties of DNA-linked gold nanoparticle assemblies? *Journal of the American Chemical Society*.122(19), 4640-50.
[15] Nimse, S.B., Song, K., Sonawane, M.D., Sayyed, D.R., Kim, T. (2014) Immobilization techniques for microarray: challenges and applications. *Sensors*.14(12), 22208-29.
[16] Cai, H., Wang, Y., He, P., Fang, Y. (2002) Electrochemical detection of DNA hybridization based on silver-enhanced gold nanoparticle label. *Analytica Chimica Acta*.469(2), 165-72.
[17] Xu, C., Cai, H., Xu, Q., He, P., Fang, Y. (2001) Characterization of single-stranded DNA on chitosan-modified electrode and its application to the sequence-specific DNA detection. *Fresenius' journal of analytical chemistry*.369, 428-32.
[18] Oliveira, B.B., Ferreira, D., Fernandes, A.R., Baptista, P.V. (2023) Engineering gold nanoparticles for molecular diagnostics and biosensing. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*.15(1), e1836.
[19] Amirinejad, R., Shirvani-Farsani, Z., Mohebbi, S. (2021) The application of DNA-conjugated gold nanoparticles to detect metabolites and nucleic acids in personalized medicine. *Personalized Medicine Journal*.6(21), 23-5.
[20] Yaghubi, F., Zeinoddini, M., Saeedinia, A.R., Azizi, A., Samimi Nemati, A. (2020) Design of localized surface plasmon resonance (LSPR) biosensor for immunodiagnostic of E. coli O157: H7 using gold nanoparticles conjugated to the chicken antibody. *Plasmonics*.15, 1481-7.
[21] Faridfar, G., Zeinoddini, M., Akbarzedehkolahi, S., Faridfar, S., Nemati, A.S. (2021) Immunodiagnostic of Vibrio cholerae O1 using localized surface plasmon resonance (LSPR) biosensor. *International Microbiology*.24, 115-22.
[22] Zeinoddini, M., Azizi, A., Bayat, S., Tavasoli, Z. (2018) Localized surface plasmon resonance (LSPR) detection of diphtheria toxoid using gold nanoparticle-monoclonal antibody conjugates. *Plasmonics*.13, 583-90.
[23] Taheri, R.A., Rezayan, A.H., Rahimi, F., Mohammadnejad, J., Kamali, M. (2016) Development of an immunosensor using oriented immobilized anti-OmpW for sensitive detection of Vibrio cholerae by surface plasmon resonance. *Biosensors and Bioelectronics*.86, 484-8.
[24] Huq, A., Haley, B.J., Taviani, E., Chen, A., Hasan, N.A., Colwell, R.R. (2012) Detection, isolation, and identification of Vibrio cholerae from the environment. *Current protocols in microbiology*.26(1), 6A. 5.1-6A. 5.51.
[25] Qadami, F., Molaeirad, A., Alijanianzadeh, M., Azizi, A., Kamali, N. (2018) Localized surface plasmon resonance (LSPR)-based nanobiosensor for methamphetamin measurement. *Plasmonics*.13, 2091-8.
[26] Kim, H., Lee, J.U., Song, S., Kim, S., Sim, S.J. (2018) A shape-code nanoplasmonic biosensor for multiplex detection of Alzheimer's disease biomarkers. *Biosensors and Bioelectronics*.101, 96-102.
[27] Chang, K., Wang, S., Zhang, H., Guo, Q., Hu, X., Lin, Z. (2017) Colorimetric detection of melamine in milk by using gold

nanoparticles-based LSPR via optical fibers. *PLoS One*.12(5), e0177131.
[28] Basso, C.R., Tozato, C.C., Crulhas, B.P., Castro, G.R., Junior, J.P.A., Pedrosa V.A. (2018) An easy way to detect dengue virus using nanoparticle-antibody conjugates. *Virology*.513, 85-90.
[29] Mucic, R.C., Storhoff, J.J., Mirkin, C.A., Letsinger, R.L. (1998) DNA-directed synthesis of binary nanoparticle network materials. *Journal of the American Chemical Society*.120(48), 12674-5.
[30] Ferrari, E. (2023) Gold Nanoparticle-Based Plasmonic Biosensors. *Biosensors*.13(3), 411.
[31] Li, H., Rothberg, L. (2004) Colorimetric detection of DNA sequences based on electrostatic interactions with unmodified gold nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.101(39), 14036-9.
[32] Liu, J., Lu, Y. (2006) Fast colorimetric sensing of adenosine and cocaine based on a general sensor design involving aptamers and nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition*.45(1), 90-4.
[33] Nam, J-M., Thaxton, C.S., Mirkin, C.A. (2003) Nanoparticle-based bio-bar codes for the ultrasensitive detection of proteins. *science*.301(5641), 1884-6.
[34] Wang, W., Chen, C., Qian, M., Zhao, X.S. (2008) Aptamer biosensor for protein detection using gold nanoparticles. *Analytical Biochemistry*.373(2), 213-9.
[35] Liu, J., Lu, Y. (2004) Accelerated color change of gold nanoparticles assembled by DNAzymes for simple and fast colorimetric Pb2+ detection. *Journal of the American Chemical Society*.126(39), 12298-305.
[36] Hung, Y-L., Hsiung, T-M., Chen, Y-Y., Huang, Y-F., Huang, C-C. (2010) Colorimetric detection of heavy metal ions using label-free gold nanoparticles and alkanethiols. *The Journal of Physical Chemistry C*.114(39), 16329-34.
[37] Wang, H., Provan, G.J., Helliwell, K. (2004) Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. *Food Chemistry*.87(2), 307-11.
[38] Alvarez-Puebla, R.A., dos Santos Jr, D.S., Aroca, R.F. (2007) SERS detection of environmental pollutants in humic acid–gold nanoparticle composite materials. *Analyst*.132(12), 1210-4.
[39] Kneipp, K., Wang, Y., Dasari, R.R., Feld, M.S., Gilbert, B.D., Janni, J. (1995) Near-infrared surface-enhanced Raman scattering of trinitrotoluene on colloidal gold and silver. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*.51(12), 2171-5.
[40] Barkheh, H., Zeinoddini, M., Ranjbar, B. (2016) Colorimetric Detection of TNT Using Aptasensor based on Gold-nanoparticle. *Journal of Police Medicine*.5(3), 177-86.
[41] Barkheh, H., Zeinoddini, M., Ranjbar, B., Xodadadi, N. (2021) A Novel Strategy for Trinitrotoluene Detection Using Functionalized Gold Nanoparticles. *Journal of Analytical Chemistry*.76, 459-65.
[42] Sajid, M., Kawde, A-N., Daud, M. (2015) Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society*.19(6), 689-705.
[43] Borse, V.B., Konwar, A.N., Jayant, R.D., Patil, P.O. (2020) Perspectives of characterization and bioconjugation of gold nanoparticles and their application in lateral flow immunosensing. *Drug delivery and translational research*.10, 878-902.
[44] Yu, W., Hao, A., Mei, Y., Yang, Y., Dai, C. (2022) A turn-on fluorescent aptasensor for ampicillin detection based on gold nanoparticles and CdTe QDs. *Microchemical Journal*.179, 107454.
[45] Huang, X., El-Sayed, M.A. (2010) Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *Journal of advanced research*.1(1), 13-28.
[46] Kang, M.S., Lee, S.Y., Kim, K.S., Han, D-W. (2020) State of the art biocompatible gold nanoparticles for cancer theragnosis. *Pharmaceutics*.12(8), 701.

A review of diagnostic methods based on gold nanoparticles

Zahra Abolghasemi[1], Mehdi Zeinoddini[2*], seyed morteza robatjazi[3]

1.PhD student in Chemical Engineering (Biotechnology), Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Malek Ashtar University of Technology, Tehran, Iran.
2.Assoc. Prof., Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Malek-Ashtar University of Technology, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Malek Ashtar University of Technology, Tehran, Iran.

zeinoddini52@mut.ac.ir

Receipt: 2023/01/21 Accepted: 2023/05/22

Abstract

Gold nanoparticles (GNPs) with unique optical properties, such as easy operation and visualized assay, have a great ability to detect different types of analytes. Today, the use of gold nanoparticles has wide applications in the field of medicine and biotechnology, including the detection of microorganisms that cause contamination in water, air and food and it is considered a suitable alternative for chemical and physical methods. New technologies in the design of biosensors based on GNPs provide the ability to identify biological compounds accurately and quickly. One of these technologies is a detection sensor based on surface plasmon resonance (SPR), which based on its optical properties, is capable of very sensitive and specific measurement of biomolecule interactions without time delay. This technology can quantify in a short time the properties of biomolecular mediators (such as oligonucleotides, proteins and bacteria) on the surface, including reaction speed, tendency and concentration of surface mediators. In this review, while investigating the surface plasmon properties of gold nanoparticles, the simple diagnostic applications of gold nanoparticles based on the localized surface plasmon (LSPR) method and detection in biomedicine.

Key Words: Gold nanoparticles, Biosensor, Surface plasmon resonance, Detection.