

اثرات مونوساکاریدها و دی ساکاریدها بر نانو ذرات طلا در ساخت زیست حسگرهای تشخیصی

عاطفه جوانی ، فاطمه جوادی زرنقی 

گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۹

چکیده:

زمینه و هدف: در سال های اخیر علاوه بر روش های مولکولی متعدد موجود جهت تشخیص، روش های مبتنی بر طراحی انواع زیست حسگرها (Biosensors) مورد توجه قرار گرفته است. نوعی از این زیست حسگرها تست های جریان جانبی (Lateral Flow Test) مبتنی بر نانو ذرات طلا می باشند. با توجه به اهمیت کاربرد نانو ذرات طلا به عنوان نشانگر در زیست حسگرها و نیز لزوم استفاده از قندها در ساخت زیست حسگرها، هدف از این پژوهش بررسی تأثیر انواعی از قندها (مونوساکاریدها و دی ساکاریدها) بر نانو ذرات طلا جهت ساخت زیست حسگر تشخیصی می باشد.

روش بررسی: در مطالعه آزمایشگاهی حاضر، پس از سنتز نانو ذرات طلا به صورت شیمیایی، سایز، بیشینه جذب در ۵۲۰ نانومتر و غلظت نانو ذرات با استفاده از اسپکتروفتومتر و روش DLS مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس با توجه به اهمیت استفاده از قندها در ساخت زیست- حسگرها، شیب غلظتی ۵ تا ۵۰۰ میلی مولار از قندهای گلوکز، فروکتوز، ساکاروز و ترهالوز تهیه و طیف جذبی آنها، بعد از تأثیر بر نانو ذرات طلا در طول موج ۴۵۰ تا ۷۰۰ نانومتر به دست آمد.

یافته ها: بررسی نتایج حاصل از خوانش طیف اسپکتروفتومتری نانو ذرات سنتز شده، در حضور و عدم حضور انواع قندهای مونوساکارید و دی ساکارید ذکر شده، نشان دهنده کاهش بیشینه جذب نانو ذرات پس از اعمال شیب غلظتی انواع قند بر آنها می باشد و همچنین شیب غلظتی اعمال شده از قندهای گلوکز، ساکاروز و ترهالوز تأثیری بر تجمع و رسوب نانو ذرات طلا نداشته؛ در حالی که فروکتوز در غلظت های ۵۰ میلی مولار به بالا باعث تجمع نانو ذرات طلا می شود.

نتیجه گیری: به دلیل ضرورت استفاده از قندها در ساخت نانو حسگرهای زیستی، به نظر می رسد استفاده از قندهای کتوننی از جمله فروکتوز در غلظت های ۵۰ میلی مولار به بالا جهت ساخت زیست حسگر مناسب نمی باشد.

واژه های کلیدی: زیست حسگر، تست های جریان جانبی، نانو ذرات طلا، مونوساکارید دی ساکارید.

مقدمه:

طولانی و تحمیل هزینه های بسیار و نیاز به پرسنل متخصص جهت تفسیر نتایج می باشد.

امروزه تلاش ها بیشتر در جهت طراحی زیست حسگرهایی با تشخیص دقیق، حساس، انتخابی و کاربردی مولکول های زیستی است. زیست حسگرها یک گروه از سیستم های اندازه گیری می باشند که طراحی آن ها بر مبنای شناسایی انتخابی آنالیت ها

نوکلئیک اسیدها از اهمیت ویژه ای برای تشخیص و درمان بیماری های ژنتیکی، عوامل عفونی، عوامل زیستی جنگی و کشف مواد مخدر برخوردارند. تست های نوکلئیک اسیدی برای بیماری ها به طور عمده در آزمایشگاه و با استفاده از ابزار بسیار دقیق و پرسنل ماهر انجام می گیرد که در کنار مزایایی از جمله دقت و حساسیت بالا دارای معایبی مانند صرف زمان

نیازمند ابزار و در بیشتر موارد چندین مرحله انکوئاسیون و شستشو می باشند (۱۷). به تازگی گزارش هایی مبنی بر توسعه زیست حسگرهای با قابلیت تشخیص دیداری DNA بدون استفاده از ابزار اعلام شده است (۱۸). این زیست حسگرها به فرمت آزمون های نوار Dipstik می باشند (۱۹).

با تلفیق خواص اپتیک منحصر به فرد نانو ذرات طلا و خواص ویژه تشخیصی الیگونوکلوئیدها این فرم از زیست حسگرها معرفی شدند. بخش عمده کاربردهای LFA در آنالیزهای کلینیکی نهفته است که شامل تشخیص انواع آنالیت های بالینی در پلاسما، سرم، ادرار، سلول ها، بافت ها و دیگر نمونه های بیولوژیکی می باشد. از آنجایی که در ساخت زیست حسگرهای تشخیصی مبتنی بر نانو ذرات طلا حضور قندهایی نظیر ساکارز الزامی است (۲۰-۲۲)؛ بنابراین در این پژوهش تأثیر قندهای مونوساکارید مانند گلوکز و فروکتوز و دی ساکاریدهایی نظیر ساکارز و ترهالوز بر نانو ذرات طلا بررسی شد.

نمک طلا، از کمپانی مرک میلی پور خریداری شد، قندهای گلوکز، فروکتوز، ساکارز و ترهالوز از شرکت سیگما آلدریج خریداری شدند. آب فوق خالص از شرکت هوا کشت آریا خریداری شد. مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت یاسا طب خریداری شدند. جهت دستیابی به آب دو بار تقطیر از دستگاه زلالان (Zolalan) و pH متر (Sana) ساخت ایران استفاده شد.

روش بررسی:

مراحل سنتز نانو ذرات طلا مطابق با پروتکل Lu و Liu انجام شد (۲۳). به این صورت که قبل از آماده سازی نانو ذرات طلا کلیه ظروف درگیر در سنتز، با محلول Aqua Regia شستشو داده شد، در ادامه ظروف با مقادیر فراوان آب دو بار تقطیر و آب فوق خالص شسته شدند. سیستم رفلکس شامل بالون ته گرد دو گردنه ۲۰۰ میلی لیتر و کندانسور، توسط

بر اساس اجزا بیولوژیک و آشکارسازهای فیزیکی شیمیایی صورت می پذیرد، این ابزارها با بهره گیری از هوشمندی مواد بیولوژیک، ترکیب یا ترکیباتی را شناسایی نموده، با آن ها واکنش می دهند و بدین ترتیب یک پیام شیمیایی، نوری و یا الکتریکی ایجاد می نمایند. از آنجا که زیست حسگرها ابزاری توانمند جهت شناسایی مولکول های زیستی می باشند، امروزه از آن ها در علوم مختلف پزشکی، صنایع شیمیایی، صنایع غذایی، نظارت و ارزیابی سلامت محیط زیست، تولید محصولات دارویی، بهداشتی و غیره بهره می گیرند (۲۱). این ابزار تشخیصی زمانی که پاسخ سریع نیاز است، مفید می باشد؛ همچنین در مقایسه با روش های معادل آزمایشگاهی، مقرون به صرفه تر است و نیاز به ابزار دقیق و گران قیمت و نیروی کار ماهر ندارد.

یکی از گزینه های مورد استفاده به عنوان تست های نقطه مراقبتی (Point of Care)، تست های سنجش جریان جانبی می باشند. تست های جریان جانبی روش های تشخیصی ساده ای می باشند که معمولاً بر روی یک غشاء نیتروسولولزی انجام می شوند. این تست ها معمولاً برای بررسی حضور یا عدم حضور یک آنالیت مورد هدف در نمونه، به کار برده می شوند. در دو دهه گذشته زیست حسگرهای DNA به دلیل خواص سنجش پذیر (Analytical) ویژه آن ها رشد قابل ملاحظه ای داشته اند و معمول ترین زیست حسگرهای DNA مرتبط با تشخیص توالی های ویژه DNA از طریق هیبریداسیون نوکلئیک اسیدی می باشند (۱۳-۳).

تعیین سریع و قابل اعتماد توالی های نوکلئیک اسیدی نقش مهمی در تشخیص های بالینی، پزشکی قانونی، بررسی های محیطی و سلامت مواد غذایی دارد (۱۴-۱۶). مبنای عملکرد زیست حسگرهای DNA شامل تثبیت پروب های DNA روی سطح حسگر و تشخیص از طریق انتقال الکتروشیمیایی یا اپتیک می باشد. انواع زیست حسگرهای ذکر شده

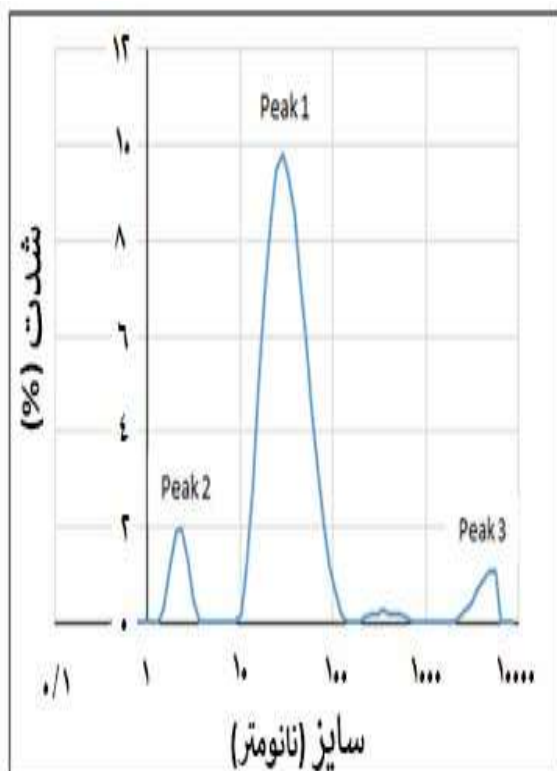
از محلول به کووت دستگاه Zeta Sizer مدل Malvern (ZEN3600) جهت سنجش سایز و پتانسیل زتا ریخته شد.

جهت بررسی اثر قندها بر نانو ذرات طلا، با استفاده از محلول ذخیره ۱ مولار هر کدام از قندها، سریالی از غلظت های مختلف هر قند در ویال های جداگانه بر نانو ذرات طلا، طراحی و تنظیم شد، در ادامه نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. به عنوان مثال جدول زیر نشانگر شیب غلظتی گلوکز در حجم نهایی ۵۰۰ میکرولیتر نانو ذره طلا در هر ویال می باشد. سپس طیف جذبی هر ویال در محدوده طول موج ۴۵۰ تا ۷۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. از مقادیر جدول شماره ۱ برای بررسی تأثیر شیب غلظت سایر قندها استفاده شد.

میله و پایه بر روی هم سوار شدند، سپس ۲ میلی لیتر از محلول نمک طلا ۵۰ میلی مولار به ۹۸ میلی لیتر آب کروماتوگرافی در بالون دو گردنه اضافه و بر روی حرارت Stirrer قرار داده شد، در بالون یک مگنت کوچک جهت هم زدن محلول در ضمن حرارت دادن اضافه گردید. پس از جوشیدن محلول، سیترات سدیم با غلظت نهایی حدود ۳۸ میلی مولار به محلول در حال جوشیدن اضافه شد. رنگ محلول از خاکستری به قرمز زرشکی تغییر پیدا کرد. پس از سنتز نانو ذرات طلا، به منظور دستیابی به بیشینه جذب نانو ذرات سنتز شده، طیف جذبی در طول موج ۴۵۰-۷۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Unico مورد بررسی قرار گرفت. همچنین پس از رقیق سازی نانو ذرات طلا به نسبت ۱:۱ با آب فوق خالص، مقدار ۱ میلی لیتر

جدول شماره ۱: مقادیر لازم جهت آماده سازی شیب غلظت گلوکز بر نانو ذرات طلا

شماره ردیف	غلظت نهایی Glucose (میلی مولار)	غلظت نهایی AuNP (نانومولار)	مقادیر اضافه شده Glucose (میکرولیتر)	مقادیر اضافه شده AuNP (میکرولیتر)
۱	۵	۱۰	۲/۵	۴۹۷/۵
۲	۱۰	۱۰	۵	۴۹۵
۳	۲۰	۱۰	۱۰	۴۹۰
۴	۵۰	۱۰	۲۵	۴۷۵
۵	۸۰	۱۰	۴۰	۴۶۰
۶	۱۰۰	۱۰	۵۰	۴۵۰
۷	۱۵۰	۱۰	۷۵	۴۲۵
۸	۲۰۰	۱۰	۱۰۰	۴۰۰
۹	۲۵۰	۱۰	۱۲۵	۳۷۵
۱۰	۳۰۰	۱۰	۱۵۰	۳۵۰
۱۱	۵۰۰	۱۰	۲۵۰	۲۵۰



تصویر شماره ۲: توزیع اندازه نانو ذرات طلا بر پایه

تفرق دینامیک نور توسط دستگاه زتا سایزر

جدول شماره ۲: میانگین نسبی قطر نانو ذرات ۱:۱

رقیق شده

نانومتر	درصد
Peak 1: ۳۴/۹۴	۸۶/۷
Peak 2: ۲/۲۲۹	۷/۲
Peak 3: ۴۳/۱۹	۴/۶

۳۳/۶۲ (نانومتر): میانگین زتا

بررسی پتانسیل زتا نانو ذرات طلا

بررسی پتانسیل زتا نانو ذرات طلا، مقدار بار

الکتریکی ۲۴- میلی ولت را در سطح نانو ذرات طلا

نشان داد.

بررسی تأثیر هر یک از قندها و طیف جذبی هر

یک، پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون بر نانو ذرات طلا در

طول موج ۷۰۰-۴۵۰ نانومتر انجام گردید.

یافته‌ها:

بررسی طیف اسپکتروفتومتری UV-Vis نانو

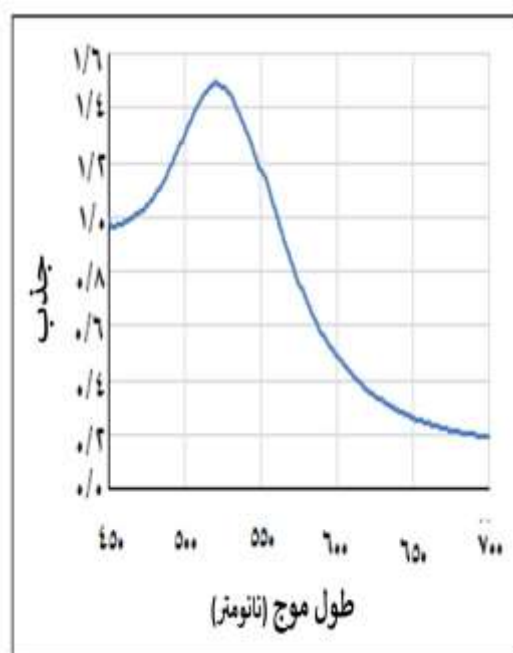
ذرات طلا

طیف جذبی نانو ذرات طلا سنتز شده در تصویر

شماره ۱ نشان داده شده است. بر اساس این طیف،

جذب بیشینه در طول موج ۵۲۰ نانومتر ۱/۵ به دست

آمد.



تصویر شماره ۱: طیف جذبی نانوذره طلا احیا شده

با سیترات در طول موج ۷۰۰-۴۵۰ نانومتر

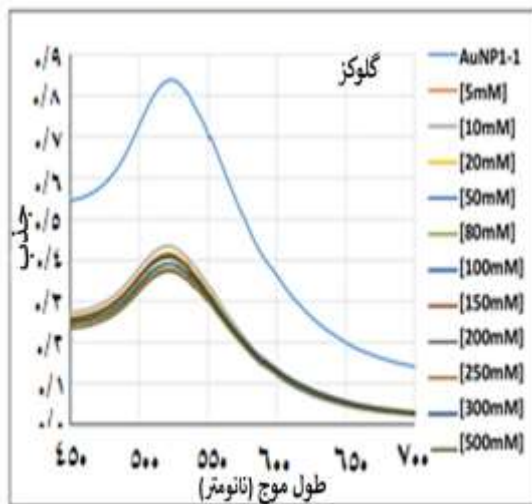
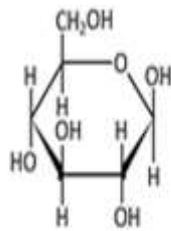
بررسی اندازه نانو ذرات طلا بر پایه تفرق

دینامیک نور (DLS)

نتایج نشان داد که میانگین نسبی قطر نانو ذرات

معادل ۳۲/۶۲ نانومتر می باشد.

در تمامی اسپکتروم ها افزایش جذب در ۶۵۰ نانومتر که نشانگر تجمع (Aggregation) یافتن نانو ذرات می باشد مشاهده نشد؛ بنابراین می توان گفت که شیب غلظتی گلوکز فقط باعث کاهش جذب بیشینه می شود و منجر به تجمع نانو ذرات در این محدوده از غلظت نمی شود.

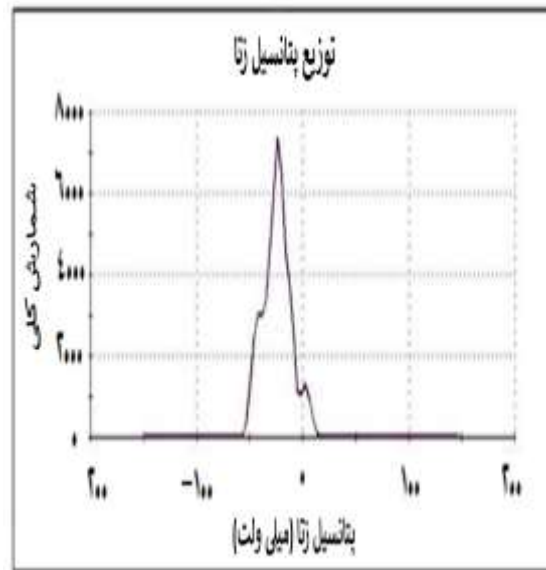


تصویر شماره ۴: بررسی تأثیر شیب غلظت قند گلوکز (میلی مولار) بر نانو ذرات طلا

بررسی تأثیر شیب غلظت قند فروکتوز بر نانو ذرات طلا

پس از تأثیر شیب غلظت قند فروکتوز بر نانو ذرات طلا، طیف جذبی برای هر یک از غلظت ها مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس تصویر شماره ۵ تا غلظت ۵۰ میلی مولار، مشابه اثر قند گلوکز بر نانو ذرات طلا فقط کاهش جذب بیشینه مشاهده شد، از غلظت ۵۰ میلی مولار به بعد با افزایش غلظت فروکتوز علاوه بر کاهش جذب بیشینه در طول موج

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): -24.0	Peak 1: -22.5	75.7	9.11
Zeta Deviation (mV): 13.3	Peak 2: -43.2	17.8	4.25
Conductivity (mS/cm): 0.070	Peak 3: 3.81	6.7	3.00



تصویر شماره ۳: بررسی پتانسیل زتای نانو ذرات ۱:۱ رقیق شده

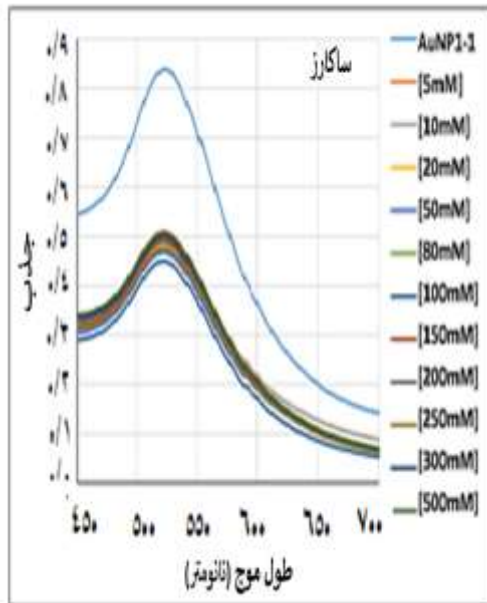
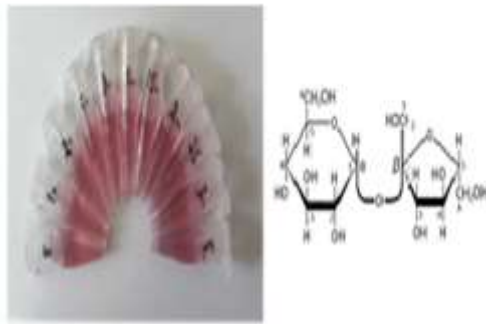
تأثیر شیب غلظت قندهای مختلف بر نانو ذرات طلا

از آنجا که در مراحل ساخت زیست حسگر، استفاده از قندهایی نظیر ساکارز لازم بود، اثر تعدادی از قندهای مونوساکارید و دی ساکارید بر پایداری نانو ذرات طلا بررسی شد (۲۴،۲۳).

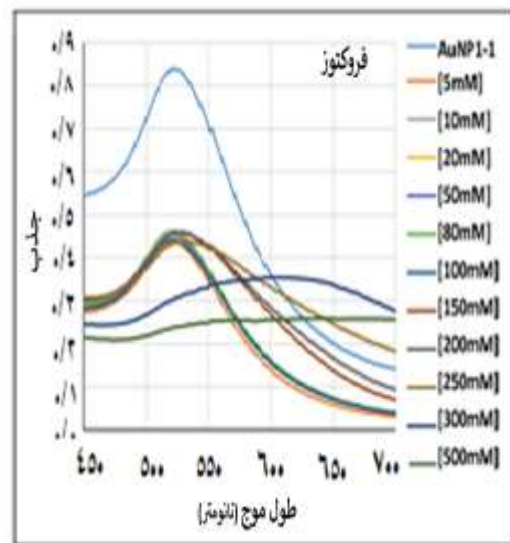
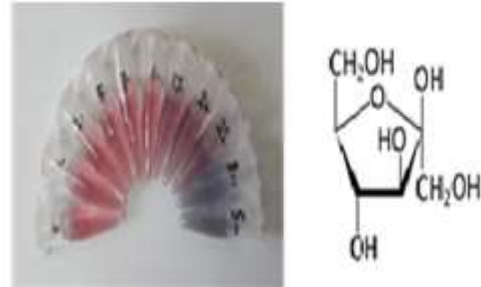
بررسی تأثیر شیب غلظت قند گلوکز بر نانو ذرات طلا

بر اساس تصویر شماره ۴، در تمام اسپکتروم های به دست آمده در نتیجه شیب غلظتی اعمال شده، نقطه پیک یعنی جذب بیشینه در طول موج ۵۲۰ نانومتر کاهش چشمگیری داشته است. لازم به ذکر است که

۵۲۰ نانومتر، افزایش جذب در طول موج ۶۵۰ نانومتر به وضوح قابل مشاهده است.



تصویر شماره ۶: بررسی تأثیر شیب غلظت قند ساکارز (میلی مولار) بر نانو ذرات طلا



تصویر شماره ۵: بررسی تأثیر شیب غلظت قند فروکتوز (میلی مولار) بر نانو ذرات طلا

بررسی تأثیر شیب غلظت قند ترهالوز بر نانو ذرات طلا

در مورد قند ترهالوز نیز مراحل آماده سازی و اثر دهی بر نانو ذرات طلا انجام گرفت و تأثیر شیب غلظتی آن توسط طیف جذب اسپکتروم در طول موج ۴۵۰-۷۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. مشابه تأثیر شیب غلظتی گلوکز و ساکارز، شیب غلظتی ترهالوز نیز تنها باعث کاهش جذب بیشینه در طول موج ۵۲۰ نانومتر می شود و تأثیری بر تجمع نانو ذرات با توجه به محدوده مشخص شده شیب غلظتی ندارد.

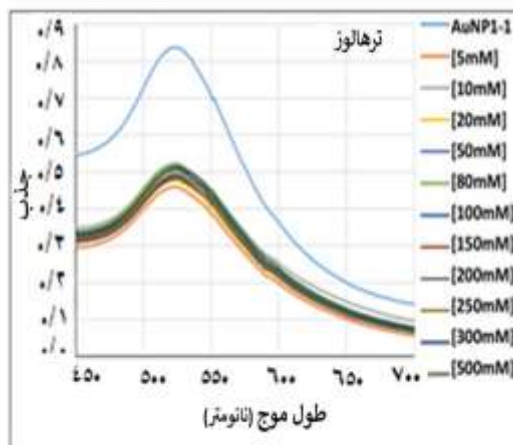
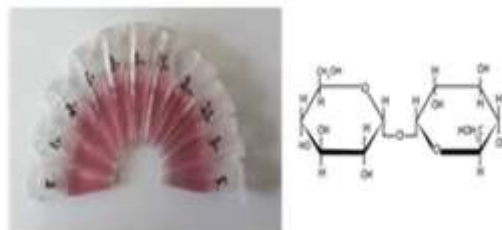
بررسی تأثیر شیب غلظت قند ساکارز بر نانو ذرات طلا

با اعمال غلظت های آماده شده محلول ساکارز بر نانو ذرات طلا، طیف جذب هر غلظت مورد بررسی قرار گرفت. همانند نتایج مربوط به تأثیر شیب غلظتی گلوکز، در مورد قند ساکارز نیز نتایج مشابهی به دست آمد. بر همین اساس شیب غلظتی ساکارز در محدوده معین شده، فقط بر کاهش جذب بیشینه در طول موج ۵۲۰ نانومتر تأثیر داشت.

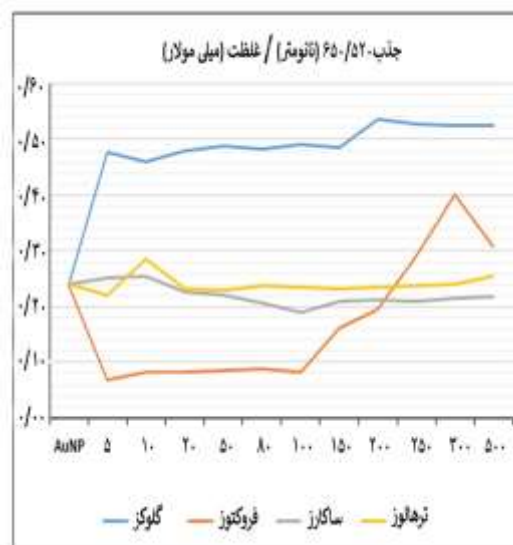
بحث:

از جمله روش های تشخیصی که توجه زیادی به آن ها معطوف است می توان به طراحی انواع زیست حسگرها اشاره کرد (۶-۱). زیست حسگرهای تشخیصی دارای انواع مختلفی هستند و کاربردهای وسیعی را پوشش می دهند (۸-۳). استفاده از زیست حسگرها به دلیل دقت و حساسیت روش و همچنین در مواردی که دلیل عدم نیاز به وسایل پیشرفته و صرف زمان و هزینه زیاد برای تشخیص آنالیت ها در مراکز کوچک و در مراکز با امکانات کم و حتی در منزل نیز کاربرد دارد. این روش ها می توانند در امر تشخیص و درمان بیماری ها (انواع سرطان، دیابت)، تشخیص بیماری ها در سطح ژن، تشخیص عوامل بیماری زا، ارزیابی و اندازه گیری آنالیت های موجود در نمونه بیولوژیک مورد استفاده قرار گیرند (۱۴). تست هایی تحت عنوان تست های سریع یا نقطه مراقبتی از دسته این زیست حسگرهای تشخیصی به شمار می آیند که در آن ها از تکنولوژی میکروفلوئیدیک استفاده شده است (۲۲).

در دهه های اخیر، طراحی و سنتز سطوح هوشمندی که ظرفیت و قابلیت اتصال و تثبیت DNA عملکردی را جهت ساخت زیست حسگرها داشته باشد، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۳-۱). از جمله بستریایی که تاکنون جهت تثبیت بیومولکول ها مورد استفاده قرار گرفته اند، می توان به کوانتوم دات های نیمه رسانا، نانوذره های مغناطیسی، ذره های پلیمری، نانو ساختارهای بر پایه کربن و نانوذره های فلزی از قبیل طلا، نقره و غیره اشاره کرد (۶، ۷، ۲۲). ثابت شده است که در مقایسه با سایر نانو ساختارها، نانوذره های فلزی، بیشترین انعطاف پذیری را به دلیل امکان کنترل اندازه، شکل، ترکیب و ساختار در طی ساخت دارند (۳-۱). از آنجایی که نانو ذرات طلا دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی منحصر به فردی می باشند و این ویژگی ها برای سیستم های تشخیصی بسیار مناسب و کارا است، در چند سال گذشته در طیف وسیعی از روش های بسیار خلاقانه،



تصویر شماره ۷: بررسی تأثیر شیب غلظت قند تربالوز (میلی مولار) بر نانو ذرات طلا



تصویر شماره ۸: مقایسه و بررسی نسبت جذب نانو ذرات طلا در طول موج ۶۵۰ به ۵۲۰ نانومتر به غلظت های مختلف هر قند (میلی مولار)

مقاله حاضر منتج از پایان نامه دانشجویی، با کد اخلاق IR.UI.REC.1396.NN1 در دانشکده علوم دانشگاه اصفهان به تصویب رسید.

از این ۴ نوع قند بر نانو ذرات طلا به چند نکته اساسی در این رابطه می توان دست یافت.

۱- در مورد گلوکز، ترهالوز و ساکارز پس از اعمال شیب غلظتی هر قند بر نانو ذرات طلا، بیشینه جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر کاهش چشمگیری پیدا کرده و افزایش قند تأثیری در تجمع یافتن نانو ذرات طلا نداشت؛ ۲- در مورد مونوساکاریدها، گلوکز یک آلدوز به شمار می آید و دارای گروه آلدئیدی و فروکتوز یک کتوز است و دارای گروه کتونی و هر دو قندهای احیا کننده به شمار می آیند اما در بررسی مقایسه ای نتایج مطابق تصویر شماره ۸، مشاهده شد که شیب غلظتی گلوکز با وجود خاصیت احیاکنندگی تأثیری بر تجمع نانو ذرات و افزایش جذب در ۶۵۰ نانومتر ندارد، این در حالی است که شیب غلظتی اعمال شده فروکتوز بر نانو ذرات طلا تا غلظت ۵۰ میلی مولار فروکتوز، تأثیری مشابه گلوکز دارد و از غلظت ۷۵ میلی مولار به بعد با افزایش غلظت، افزایش جذب در طول موج ۶۵۰ نانومتر ملاحظه شد که نشانه تجمع و رسوب نانو ذرات طلا می باشد.

علت تفاوت در تأثیر دو قند احیا کننده، ممکن است احتمالاً ۱- به دلیل بالا بودن قدرت احیاکنندگی فروکتوز با داشتن گروه کتونی نسبت به گلوکز باشد و یا ۲- به علت میانکنش گروه‌های هیدروژن و هیدروکسیل موجود در فروکتوز در کنار گروه کتونی و قرارگیری متفاوت گروه ها در فضا با نانو ذرات باشد. در مورد تأثیر قندهای ساکارز و ترهالوز تقریباً نتایج مشابهی به دست آمد.

با توجه به اینکه ساکارز یک قند غیر احیاکننده می باشد و از ترکیب دو قند گلوکز و فروکتوز ایجاد می شود، همچنین در میانکنش این دو قند با یکدیگر گروه کتونی قند فروکتوز از دسترس خارج می شود؛ بنابراین می توان اینطور جمع بندی کرد که تفاوت تأثیر شیب غلظتی قندها بر نانو ذرات طلا احتمالاً قدرت احیاکنندگی نیست زیرا گلوکز که احیاکننده است با ساکارز که غیر احیاکننده است تأثیر مشابهی بر نانو ذرات

برای سنجش یون های فلزی، مولکول های کوچک، پروتئین ها و بیومارکرهای اسید نوکلئیک، در زیست حسگرها به کار گرفته شده‌اند (۲۵). با استفاده از نانو ذرات طلا در تشخیص، انتظار می رود تا حساسیت تست افزایش پیدا کند و زمان کمتری جهت به نتیجه رسیدن آزمایش صرف شود.

انواع روش ها برای ساخت نانو ذرات طلا وجود دارد که عبارت اند از: ۱) روش های شیمیایی (مثل کاهش نمک طلا توسط سترات سدیم، بروهیدرات)، ۲) روش های فیزیکی و ۳) روش های بیولوژیکی (۲۶). هر یک از این روش ها مزایا و معایب خاص خود را دارا می باشند. با توجه به اینکه از میان این روش ها، کنترل سنتز سایز دلخواه نانو ذرات طلا با روش شیمیایی امکان پذیرتر از دو روش فیزیکی و بیولوژیکی می باشد از این جهت از روش فوق برای سنتز نانو ذرات طلا استفاده شد. روش احیاء با سترات Lu و Liu به دلیل سادگی و بازدهی بالا معمول ترین روش، جهت تهیه نانو ذرات کروی در بررسی های بیولوژیکی می باشد (۲۷). با توجه به اینکه سایز نانو ذرات طلا جهت اتصال به پروب در ساخت زیست حسگرها از اهمیت ویژه ای برخوردار است؛ بنابراین سایز به دست آمده از بررسی اندازه نانو ذرات در این پژوهش مطلوب به نظر می رسد، چراکه نسبت به اندازه پروب به کار رفته در زیست حسگر مدنظر، سایز نانو ذرات طلا کوچک تر نمی باشد، در غیر این صورت به دلیل ایجاد دافعه میان نانو ذرات پوشیده شده با بار منفی زیست حسگر طراحی شده ناپایدار خواهد شد (۲۸).

با توجه به بررسی مقالات متعدد، لزوم استفاده از قندها در مراحل ساخت زیست حسگر ضروری بود (۲۲-۲۰). از این رو اثر تعدادی از قندهای مونوساکارید و دی ساکارید بر روی پایداری نانو ذرات طلا بررسی شد. از میان مونوساکاریدها، گلوکز و فروکتوز و از دی ساکاریدها، ترهالوز و ساکارز انتخاب شدند (۲۵، ۲۹-۳۲). بر اساس نتایج گزارش شده، با اثردهی طیف شیب غلظتی ۵ تا ۵۰۰ میلی مولار هر یک

غلظت های ۵۰ میلی مولار به بالا جهت ساخت زیست حسگر مناسب نمی باشد.

تشکر و قدردانی:

این مقاله مستخرج از پایان نامه خانم عاطفه جوانی دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوشیمی از دانشگاه اصفهان می باشد که در تاریخ ۱۳۹۴/۰۶/۲۹ به شماره ۹۴/۳۴۵۸۹/ الف در دانشکده علوم دانشگاه اصفهان تصویب گردید. بدین وسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده علوم جهت تأمین هزینه ها اعلام می دارند.

طلا گذاشته اند و در واقع احتمالاً حضور عامل کتونی در فروکتوز باعث تفاوت در تأثیر بر نانو ذرات طلا می شود. به هر حال، در مراجعه به مقالات متعدد در زمینه ساخت نانو حسگرهای زیستی، کاربرد قندهای ساکارز و گلوکز کاملاً مشهود است که این تأییدی بر نتایج حاصل از این پژوهش است (۲۳،۳۳).

نتیجه گیری:

به دلیل ضرورت استفاده از قندها در ساخت نانو حسگرهای زیستی، با توجه به بررسی های انجام شده به نظر می رسد استفاده از قندهای کتونی از جمله فروکتوز در

منابع:

1. Salata O. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnology*. 2004; 2(1): 3.
2. Ge X, Asiri AM, Du D, Wen W, Wang S, Lin Y. Nanomaterial-enhanced paper-based biosensors. *TrAC Trends Anal Chem*. 2014; 58: 31-9.
3. Zhang C, Zhang Y, Wang S. Development of multianalyte flow-through and lateral-flow assays using gold particles and horseradish peroxidase as tracers for the rapid determination of carbaryl and endosulfan in agricultural products. *J Agric Food Chem*. 2006; 54(7): 2502-7.
4. Handali S, Klarman M, Gaspard AN, Dong XF, Laborde R, Noh J, et al. Development and evaluation of a magnetic immunochromatographic test to detect *Taenia solium*, which causes taeniasis and neurocysticercosis in humans. *Clin Vaccine Immunol*. 2010; 17(4): 631-7.
5. Yang W, Li XB, Liu GW, Zhang BB, Zhang Y, Kong T, et al. A colloidal gold probe-based silver enhancement immunochromatographic assay for the rapid detection of abrin-a. *Biosens Bioelectron*. 2011; 26(8): 3710-3.
6. Nor NM, Razak KA, Tan SC, Noordin R. Properties of surface functionalized iron oxide nanoparticles (ferrofluid) conjugated antibody for lateral flow immunoassay application. *J Alloys Compound*. 2012; 538: 100-6.
7. Zheng C, Wang X, Lu Y, Liu Y. Rapid detection of fish major allergen parvalbumin using superparamagnetic nanoparticle-based lateral flow immunoassay. *Food Control*. 2012; 26(2): 446-52.
8. Anfossi L, Di Nardo F, Giovannoli C, Passini C, Baggiani C. Increased sensitivity of lateral flow immunoassay for ochratoxin A through silver enhancement. *Anal Bioanal Chem*. 2013; 405(30): 9859-67.
9. Javani A, Javadi-Zarnaghi F, Rasaei MJ. Development of a colorimetric nucleic acid-based lateral flow assay with non-biotinylated capture DNA. *Appl Biol Chem*. 2017; 60(6): 637-45.
10. Corstjens PL, de Dood CJ, Priest JW, Tanke HJ, Handali S, Cysticercosis Working Group in P. Feasibility of a lateral flow test for neurocysticercosis using novel up-converting nanomaterials and a lightweight strip analyzer. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014; 8(7): e2944.

11. Xie QY, Wu YH, Xiong QR, Xu HY, Xiong YH, Liu K, et al. Advantages of fluorescent microspheres compared with colloidal gold as a label in immunochromatographic lateral flow assays. *Biosens Bioelectron.* 2014; 54: 262-5.
12. Yan J, Liu Y, Wang Y, Xu X, Lu Y, Pan Y, et al. Effect of physiochemical property of Fe₃O₄ particle on magnetic lateral flow immunochromatographic assay. *Sens Actuators B Chem.* 2014; 197: 129-36.
13. Taranova N, Berlina A, Zherdev A, Dzantiev B. Traffic light' immunochromatographic test based on multicolor quantum dots for the simultaneous detection of several antibiotics in milk. *Biosens Bioelectron.* 2015; 63: 255-61.
14. van Dam GJ, Wichers JH, Ferreira TM, Ghati D, van Amerongen A, Deelder AM. Diagnosis of schistosomiasis by reagent strip test for detection of circulating cathodic antigen. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(12): 5458-61.
15. Mokkapatani VK, Sam Niedbala R, Kardos K, Perez RJ, Guo M, Tanke HJ, et al. Evaluation of UPLink-RSV: Prototype rapid antigen test for detection of respiratory syncytial virus infection. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1098: 476-85.
16. Juntunen E, Myyrylainen T, Salminen T, Soukka T, Pettersson K. Performance of fluorescent europium(III) nanoparticles and colloidal gold reporters in lateral flow bioaffinity assay. *Anal Biochem.* 2012; 428(1): 31-8.
17. Kawde A-N, Mao X, Xu H, Zeng Q, He Y, Liu G. Moving enzyme-linked immunosorbent assay to the point-of-care dry-reagent strip biosensors. *Am J Biomed Sci.* 2010; 2(1): 23-32.
18. Liu J, Mazumdar D, Lu Y. A simple and sensitive "dipstick" test in serum based on lateral flow separation of aptamer-linked nanostructures. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2006; 45(47): 7955-9.
19. Chen R, Li H, Zhang H, Zhang S, Shi W, Shen J, et al. Development of a lateral flow fluorescent microsphere immunoassay for the determination of sulfamethazine in milk. *Anal Bioanal Chem.* 2013; 405(21): 6783-9.
20. Demers LM, Mirkin CA, Mucic RC, Reynolds RA, 3rd, Letsinger RL, Elghanian R, et al. A fluorescence-based method for determining the surface coverage and hybridization efficiency of thiol-capped oligonucleotides bound to gold thin films and nanoparticles. *Anal Chem.* 2000; 72(22): 5535-41.
21. Klekotko M, Matczyszyn K, Siednienko J, Olesiak-Banska J, Pawlik K, Samoc M. Bio-mediated synthesis, characterization and cytotoxicity of gold nanoparticles. *Phys Chem Chem Phys.* 2015; 17(43): 29014-9.
22. Javani A, Javadi-Zarnaghi F, Rasaei MJ. A multiplex protein-free lateral flow assay for detection of microRNAs based on unmodified molecular beacons. *Anal Biochem.* 2017; 537: 99-105.
23. Mao X, Ma Y, Zhang A, Zhang L, Zeng L, Liu G. Disposable nucleic acid biosensors based on gold nanoparticle probes and lateral flow strip. *Anal Chem.* 2009; 81(4): 1660-8.
24. Eric Aston D, Larry Branen A. DNA detection on lateral flow test strips: enhanced signal sensitivity using LNA-conjugated gold nanoparticles. *Chem Commun.* 2012; 48(62): 7714-6.
25. Agasti SS, Rana S, Park MH, Kim CK, You CC, Rotello VM. Nanoparticles for detection and diagnosis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010; 62(3): 316-28.
26. Eustis S, el-Sayed MA. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. *Chem Soc Rev.* 2006; 35(3): 209-17.
28. Cutler JI, Auyeung E, Mirkin CA. Spherical nucleic acids. *J Am Chem Soc.* 2012; 134(3): 1376-91.

29. Raj V, Vijayan AN, Joseph K. Naked eye detection of infertility using fructose blue: A novel gold nanoparticle based fructose sensor. *Biosens Bioelectron.* 2014; 54: 171-4.
30. Wang Y, Xu H, Wei M, Gu H, Xu Q, Zhu W. Study of superparamagnetic nanoparticles as labels in the quantitative lateral flow immunoassay. *Mater Sci Eng C.* 2009; 29(3): 714-8.
31. Xu Q, Xu H, Gu H, Li J, Wang Y, Wei M. Development of lateral flow immunoassay system based on superparamagnetic nanobeads as labels for rapid quantitative detection of cardiac troponin I. *Mater Sci Eng C.* 2009; 29(3): 702-7.
32. Mazumdar D, Lan T, Lu Y. "Dipstick" colorimetric detection of metal ions based on immobilization of DNAzyme and gold nanoparticles onto a lateral flow device. *Methods Mol Biol.* 2017; 1571: 389-406.
33. Liu C, Jia Q, Yang C, Qiao R, Jing L, Wang L, et al. Lateral flow immunochromatographic assay for sensitive pesticide detection by using Fe₃O₄ nanoparticle aggregates as color reagents. *Anal Chem.* 2011; 83(17): 6778-84.
27. Liu J, Lu Y. Preparation of aptamer-linked gold nanoparticle purple aggregates for colorimetric sensing of analytes. *Nat Protoc.* 2006; 1(1): 246-52.

The effects of mono and disaccharides on gold nanoparticles used for biosensors

Javani A, Javadi- Zarnaghi F*

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 12/Feb/2017

Accepted: 14/Nov/2017

Background and aims: Recently, in addition to numerous molecular methods available for diagnosis, methods based on the design of various biosensors considered. Some of these biosensors are Lateral flow tests based on gold nanoparticles. Considering the importance of the application of gold nanoparticles as markers in biosensors and also the need for the use of sugars in the construction of biosensors, this study was aimed to investigate the effects of various sugars (monosaccharides and disaccharides) on gold nanoparticles for the development of diagnostic biosensors.

Methods: In this experimental study, after synthesis of gold nanoparticles chemically, by size, assessed maximum absorption at 520 nm, and concentration of nanoparticles by spectrophotometer and DLS method. Then, considering the importance of using sugars in the manufacture of biosensors, a concentration gradient of 5 to 500 mM glucose, fructose, sucrose, and trehalose, and their absorption spectra, after exposure to gold nanoparticles at 450 to 700 nm was detected.

Results: The results of the spectrophotometric spectrum of synthesized nanoparticles in the presence and absence of sugars of monosaccharide and disaccharide indicate a decrease in the maximum absorption of nanoparticles after the application of a steady slope of sugar types on them and also concentration gradient of glucose, sucrose and trehalose sugars had no effect on the accumulation and aggregation of gold nanoparticles, while fructose at concentrations up to 50 mM leads to the accumulation of gold nanoparticles.

Conclusion: Due to the necessity of using sugars in the production of biosensors, it seems that the use of ketone sugars, such as fructose, at concentrations of 50 mM upwards is not suitable for making biosensors.

Keywords: Biosensor, Lateral flow test, Gold nanoparticle, Monosaccharide, Disaccharide.

Cite this article as: Javani A, Javadi Zarnaghi F. The effects of mono and disaccharids on gold nanoparticles used for biosensors. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 20(5): 1-12.

*Corresponding author:

Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00989136486792,
E-mail: fa.javadi@sci.ui.ac.ir