ORIGINAL ARTICLE

Gold Nanoparticle Synthesis by Apoferritin Conjugated-antibody in Detecting Vibrio Cholera

Naimeh Mahheidari[1],
Jamal Rashidiani[2],
Khadijeh Eskandari[3]

[1] Phd Candidate of Tissue Engineering, Student Research Committee, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran
[2] PhD of Nanobiotechnology, Nanobiotecnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Assistant Professor, Nanobiotecnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received February 2, 2019 ; Accepted September 7, 2019)

Abstract

Background and purpose: Synthesis of homogeneous and equally important nanoparticles is very popular in various sciences. Preparation and use of gold nanoparticles is very important according to their applications in biotechnology. For synthesizing homogeneous gold nanoparticles many substrates and nanostructures have been used. This study aimed at synthesis of gold nanoparticles by apoferritin to be conjugated to antibody for detection of *vibrio cholera*.

Materials and methods: In this study, gold nanoparticles were prepared in apoferritin and compared with apoferritin free gold nanoparticles. Data were characterized by UV-Vis, DLS, and FE-SEM spectroscopy.

Results: Findings showed that the synthesized gold nanoparticles in apoferritin are more homogeneous.

Conclusion: The distribution of synthesizing gold nanoparticle in presence of apoferritin was so homogenous. In the following step, gold nanoparticles were separated from apoferritin and conjugated to recombinant antibody for detecting *vibrio cholera*. By bacteria aatchment on gold nanoparticles, red shift ocured on wavelength, which was also visible to naked eyes. So, gold nanoparticles could be considered as a colored biosensor for detection of *vibrio cholera.*

Keywords: gold nanoparticles, apoferritin, antibody, spectroscopy

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (179): 40-48 (Persian).

* **Corresponding Author: Khadijeh Eskandari -** Nanobiotecnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E- mail: kheskandari@ut.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره 179 آذر سال 1398 (48-40)

سنتز نانوذرات طلا در آپوفریتین جهت اتصال به آنتی بادی برای تشخیص باکتری *ویبریوکلرا*

نعیمه ماه حیدری[1]
جمال رشیدیانی[2]
خدیجه اسکندری[3]

چکیده

سابقه و هدف: سنتز نانوذرات همگن و هم اندازه در بخش‌های مختلف علوم بسیار پرکاربرد است. در این میان تهیه و استفاده از نانوذرات طلا به لحاظ وسعت کاربرد در علوم زیستی حائز اهمیت ویژه ای می‌باشد. برای ساخت نانوذرات همگن و هم اندازه از بسترها و نانوساختارهای بسیاری بهره برده شده است. این مطالعه با هدف سنتز نانوذرات طلا در آپوفریتین جهت اتصال به آنتی بادی برای تشخیص باکتری *ویبریوکلرا*، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، نانوذرات طلا در آپوفریتین تهیه شد و تفاوت آن در حالت آزاد (بدون آپوفریتین) مقایسه گردید و نتایج مطالعه با اسپکتروسکوپی UV-Vis، DLS و FE-SEM بررسی شد.

یافته‌ها: سنتز نانوذره در آپوفریتین نتایج بهتری از نظر توزیع هم اندازه نانوذرات را در پی دارد و نانوذرات تهیه شده دارای یکنواختی و توزیع یکسان تری نسبت به دیگر روش‌ها می‌باشد.

استنتاج: با توجه به تایید یکنواختی و توزیع نانوذرات با روش جدید سنتز شد و در ادامه کار نانوذرات طلای تهیه شده از قالب آپوفریتین استخراج گشته و به آنتی بادی نوترکیب *ویبریوکلرا* جهت تشخیص باکتری *ویبریوکلرا* استفاده شد. با اتصال باکتری تغییر طول موج نانوذرات طلا به سمت قرمز اتفاق می افتد که با چشم غیر مسلح نیز مشهود است بنابراین نانوذرات طلا زیست حسگری رنگی برای تشخیص باکتری ویبریوکلرا محسوب می شود.

واژه های کلیدی: نانوذرات طلا، آپوفریتین، اسپکتروسکوپی، آنتی بادی

مقدمه

نانوذرات و روش‌های تهیه آن‌ها به واسطه کاربردهای گسترده شان در زمینه‌های مختلف شیمیایی، زیستی، الکترونیک، مکانیکی و ابزارآلات مغناطیسی مورد توجه می‌باشد(1). نانوذرات می‌توانند تنوع بسیار زیادی در اندازه، ترکیب و شکل داشته باشند. سنتز نانوذرات یکدست، یکنواخت و با کیفیت بالا همواره دغدغه پژوهشگران بوده و هست(5-2). نانوذرات طلا دارای روش‌های سنتز مختلفی می‌باشند که هر کدام از این روش‌ها می‌توانند پیچیدگی‌ها و مزایای خود را داشته باشند. این روش‌ها شامل روش‌های سنتز شیمیایی، فیزیکی و یا سبز است که می‌توانند بر اساس اندازه و ریخت شناسی و کاربرد تنوع داشته باشند.یکی از روش‌های سنتز شیمیایی ترکوویچ است

مولف مسئول: خدیجه اسکندری: تهران: دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج)، مرکز تحقیقات نانو بیوتکنولوژی E-mail:kheskandari@ut.ac.ir
1. دانشجوی دکترای مهندسی بافت، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
2. دکترای نانوبیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج)، تهران، ایران
3. استادیار، مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج)، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1397/11/13 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1397/11/16 تاریخ تصویب : 1398/6/17

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

که درسال 1951 معرفی شد. در این روش از یون سیترات در جهت کاهیده شدن نمک طلا استفاده شده است. از روش‌های دیگر سنتز شیمیایی می‌توان به براست، میکروامولسیون، فراصوت، اولتراسوند اشاره کرد. روش‌های سبز شامل سنتز نانوذرات طلا به کمک باکتری‌ها از عصاره گیاهان می‌باشد. یکی از مهم‌ترین اصولی که در این روش‌ها مد نظر محققین بوده است، به‌دست آوردن یک توزیع یکدست و یکنواخت از نانوذرات می‌باشد تا بتوانند با دقت بیش‌تری، نتایج به دست آمده از تحقیقات را گزارش کنند. همچنین توزیع سایز یکنواخت می‌تواند عملکرد نانوذرات را افزایش دهد(9-6). از آن‌جایی‌که ترازهای انرژی الکترونی نانوذرات رسانا و نیمه رسانا براساس اندازه نانوذره کوانتیزه شده است، دستیابی به نانوذرات همگن بسیار دشوار می‌باشد. لذا برای دستیابی به این موضوع، استفاده از پروتئین‌های قفس مانندی همچون آپوفریتین اجتناب ناپذیر است(12-10). آپوفریتین یک نانوساختار پروتئینی است که 24 سابیونیت پلی‌پپتیدی دارد که یک قفس با قطری 12/5 نانومتر را به وجود می‌آورد. حفره داخلی آپوفریتین تقریبا 8 نانومتر است که 4500 اتم آهن را به عنوان اکسید آهن- هیدروکسیل در خود جای می‌دهد. آپوفریتین 14 کانال با ابعاد 3-4 آنگستروم دارد. 8 کانال هیدروفیل عبور یون‌های فلزی و مولکول‌های کوچک را به داخل کانال پروتئین تسهیل می‌کند. تاکنون نانوکامپوزیت‌های آلی- فلزی فراوانی در آپوفریتین سنتز شده‌اند که می‌توان از کبالت، منگنز، سولفید آهن، فسفات آهن، نیکل، آبی پروس، کروم و منگنز را نام برد.

از طرفی نانوذره‌های طلا و فلزات نجیب به سبب خواص مطلوبی که از خود بروز داده‌اند، مورد بررسی خاص قرار می‌گیرند. نانوذره‌های طلا از پایدارترین نانوذره‌های موجود هستند که با ویژگی‌هایی از جمله اثر اندازه کوانتومی، خواص الکتریکی وابسته به اندازه و خواص مغناطیسی و همچنین داشتن کاربردهایی همچون کاتالیز واکنش‌های شیمیایی و کاربرد در علوم بیولوژی و مهندسی پزشکی، به منزله نانوذره‌هایی منحصر به فرد مطرح می شود(14،13،6). با توجه به موارد ذکر شده این مطالعه با هدف سنتز نانوذرات طلا در آپوفریتین جهت اتصال به آنتی‌بادی برای تشخیص باکتری *ویبریوکلرا*، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، آپوفریتین استخراج شده از طحال اسب (Equine Spleen Apoferritin) و هیدروژن تترا کلرو آئورات (HAuCl4,Cas number 16961-25-4)، سدیم سیترات (CAS Number: 6132-04-3) از شرکت سیگما تهیه شد. پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH2PO4, CAS Number: 7778-77-0) و پتاسیم هیدروژن فسفات (K2HPO4, CAS Number: 7758-11-4)، (CAS number: 6066-82-6) NHS و (CAS number: 25952-53-8) EDAC از مرک آلمان تهیه شد. آنتی بادی نوترکیب OMPW و سویه باکتری *ویبریوکلرا* از پژوهشگاه بقیه‌اله (عج) تهیه گردید.

در این مطالعه نانوذرات طلا در آپوفریتین به روش کاهش شیمیایی با موفقیت سنتز شد و برای اتصال به آنتی‌بادی نوترکیب OMPW جهت شناسایی و اندازه‌گیری باکتری *ویبریوکلرا* استفاده گردید. نتایج مطالعه با روش‌های اسپکتروسکوپی UV-Vis، DLS و FE-SEM بررسی شد. نانوذرات طلا بعد از عامل دار شدن با مرکاپتوآندکانوییک اسید به روش کوالانسی به آنتی بادی ویبریوکلرا متصل شد که صحت اتصال با اسپکتروسکوپی FT-IR و رامان ارزیابی شد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که نانوذرات طلای سنتز شده در آپوفریتین بسیار یکنواخت می‌باشد و در کاربردهای زیستی اطمینان بخش تر و تکرار پذیرترند.

هم چنین بیوکمپلکس Au/OMP در بافر فسفات 0/1 مولار در دمای اتاق به مدت 15 دقیقه در معرض رقت های مختلف باکتری *ویبریوکلرا* (16، 25، 45، 65،

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

85، 100، 125، 150*10^4 cell/ml باکتری *ویبریوکلرا*) قرار داده شد و سپس با سانتریفیوژ 10000 دور بر دقیقه سه بار شستشو داده تا باکتری‌های اتصال نیافته حذف شوند.

روش تهیه نانوذرات طلا با آپوفریتین

ابتدا 3 میلی لیتر محلول آپوفریتین با غلظت 1/5 میکرو مولار تهیه شد. سپس 50 میکرو لیتر هیدروژن تترا کلرو آئورات 0/01 مولار به آن اضافه شد و به مدت 5 ساعت انکوبه گردید. در حالی که محلول توسط همزن مغناطیسی به شدت هم زده می‌شد، سدیم بورهیدرات 1 درصد w/v به آن اضافه گردید. تغییر رنگ محلول به قرمز نشان دهنده ذرات طلا بوده است(15). به منظور حذف نانو ذرات طلا احتمالی تشکیل شده روی سطح آپوفریتین محلول با 10000 دور بر دقیقه به مدت 15 دقیقه سانتریفیوژ گردید. این محلول به ظرف تیره تمیز که قبلا شسته شده منتقل، و در یخچال در دمای حدود 4 درجه سانتی گراد نگهداری شد(16،15).

عامل دار کردن نانو ذره طلا برای اتصال به آنتی بادی

برای اتصال آنتی‌بادی بر روی نانوذرات طلا بایستی ابتدا سطح آن را با ماده شیمیایی فعال کرد که در این مطالعه از 11- مرکاپتودکانوئیک اسید استفاده شد(17). مقدار 11 - مرکاپتودکانوئیک اسید با استفاده از غلظت معادل 0/456 OD طبق فرمول شماره 1 محاسبه گردید.

فرمول شماره 1 $M_1V_1=M_2V_2$

بر خلاف گروه تیول که به راحتی با طلا اتصال برقرار می‌کند، گروه کربوکسیلی آن به حدی از نظر آنتالپی پایدار است که برای انجام واکنش با گروه‌های آمیدی نیاز به افزایش دما و یا استفاده از کاتالیزور دارد. EDC در حضور NHS باعث فعال شدن 11- مرکاپتودکانوئیک و آنتی بادی می شود و پس از انجام واکنش مانند یک آنزیم از واکنش خارج می‌شود.

200 میکرو لیتر از بافر MES (pH=6/1) با 0/11 گرم از NHS و 0/09 گرم از EDC را به طور جداگانه تهیه کرده و هر کدام جداگانه در 10 میلی‌لیتر بافر MES حل گردید و تحت شرایط همزدن شدید نانو ذره به آن اضافه گردید. سپس در دمای اتاق به مدت 45 دقیقه عمل همزدن محلول بی وقفه دنبال گشت. 1 میلی‌لیتر از 11- مرکاپتودکانوئیک اسید با غلظت 2 میلی‌مولار به نانوذره طلا به حجم 4 میلی لیتر اضافه شد و حجم کل به 5 میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت کل نانوذرات طلا معادل 0/4 در نظر گرفته شد و طبق فرمول شماره 1 بر حسب میکرو لیتر حجم آنتی‌بادی مورد نظر حساب گردید(18). حجم نهایی آنتی‌بادی با توجه به محاسبه زیر انجام شد.

10 ng/ml* X = 0.4ng/ml * 5000 X=200 µl

غلظت آنتی‌بادی =10 میلی گرم بر میلی لیتر،
حجم آنتی بادی = 200 میکرو لیتر

آنتی‌بادی به حجم 200 میکرو لیتر به 5 میلی‌لیتر از نانوذرات طلا اضافه گردید. در نهایت به محلول نهایی به مدت 4 ساعت در دمای اتاق و بر روی استیرر قرار داده و به آن زمان داده شد تا به آنتی‌بادی متصل شود. 11- مرکاپتودکانوئیک اسید از ناحیه تیول خود بر سطح نانوذرات طلا به صورت کوالان متصل، و از ناحیه کربوکسیلیک خود به سطح آنتی‌بادی متصل می‌شود.

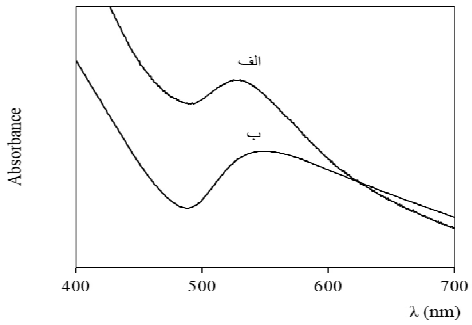
یافته ها

بررسی اندازه نانوذره طلا با دستگاه های زتا سایزر

نانوذرات طلا به دلیل پدیده پلاسمون رزونانس الکترون‌های سطحی شان در طول موج ناحیه مرئی ماکزیمم جذبی دارند که در ناحیه قرمز واقع شده است. همان‌طورکه در نمودار شماره 1 مشاهده می‌شود نانوذرات طلا در اسپکتروسکوپی UV-Vis دارای ماکزیمم جذب 528 نانومتر می‌باشند که منحنی (الف) مربوط به نانوذرات طلای تهیه شده در آپوفریتین و منحنی (ب)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

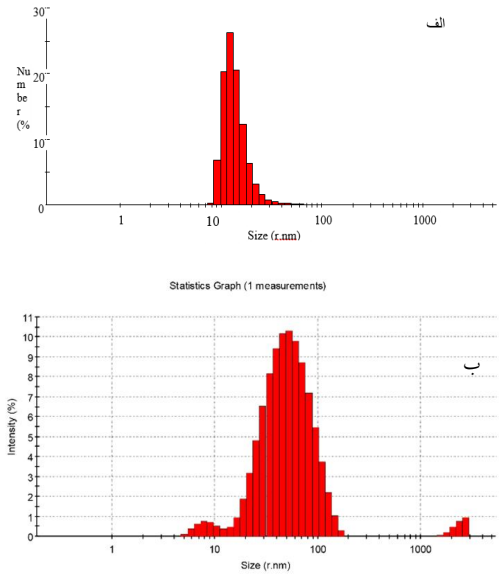
طیف نانوذرات طلا بدون حضور آپوفریتین است. همان‌طور که مشهود است منحنی ب پهن‌تر است و جابه‌جایی به سمت طول موج قرمز را دارد. این مطلب ثابت می‌کند حضور آپوفریتین موجب سنتز نانوذرات همگن و هم اندازه می‌شود و نیز احتمال اگریگه شدن را کم‌تر می‌کند. هم‌چنین توزیع اندازه این نانوذرات با دستگاه DLS اندازه‌گیری گردید. همان‌طورکه در نمودار شماره 2- الف مشاهده می‌شود توزیع نانوذرات طلای سنتز شده در آپوفریتین باریکتر بوده و میانگین اندازه 30 نانومتر را دارند. تصویر شماره 2- ب توزیع نانوذرات طلا بدون حضور آپوفریتین است. پتانسیل بار سطحی نانوذرات طلا نیز با ELS 32/2 - میلی ولت مشاهده شد که نشانه پایداری نانوذرات می‌باشد. هم‌چنین تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات طلا با TEM گرفته شده است که نشان می‌دهد نانوذرات طلا کروی همگن و هم‌اندازه می‌باشند (تصویر شماره 1).



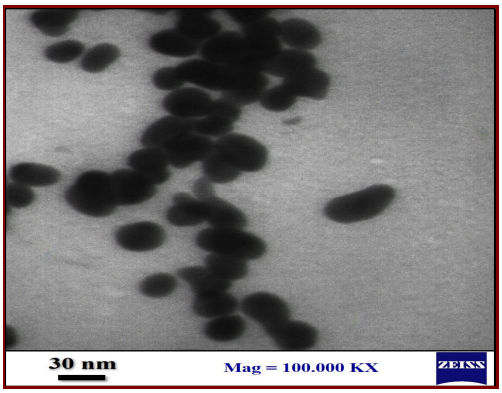
نمودار شماره 1: الف: اسپکتروسکوپی UV-Vis نانوذرات طلا در حضور آپوفریتین، ب: بدون حضور آپوفریتین

اتصال طلا به آنتی بادی ثانویه و تایید این کمپلکس توسط دستگاه FT-IR

نمودار شماره 3، طیف تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) نانوذرات طلا قبل از اتصال به آنتی‌بادی (الف) و پس از اتصال به آنتی بادی (ب) را نشان می‌دهد. نانوذرات طلا قبل از اتصال به آنتی‌بادی با مرکاپتو اتانول به عنوان تثبیت کننده طلا و مولکول اتصال دهنده طلا اصلاح شد. پیک جذبی گروه تیول (S-H) مرکاپتو اتانول در ناحیه $2600\ cm^{-1}$ است. همان‌گونه در نمودار شماره 3- ب مشاهده می‌شود، پیک $2559\ cm^{-1}$ مربوط به گروه تیول حذف شده و نشان‌دهنده اتصال مرکاپتو اتانول بر ساختار نانوذره طلا می‌باشد. هم‌چنین نمودار شماره 3- ب نشان می‌دهد که پیک‌های $2851\ cm^{-1}$ و $2923\ cm^{-1}$ مربوط به گروه‌های اتصالی پروتئینی و COOH مرکاپتو اتانول و آنتی‌بادی می‌باشد(21-19).



تصویر شماره 2: الف: توزیع نانوذرات طلا در حضور آپوفریتین، ب: بدون حضور آپوفریتین



تصویر شماره 1: تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات طلا

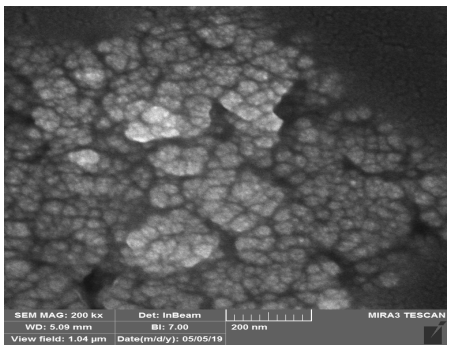
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از نانوذرات طلای اصلاح شده با آنتی بادی OMPW و متصل شده با باکتری ویبریوکلرا

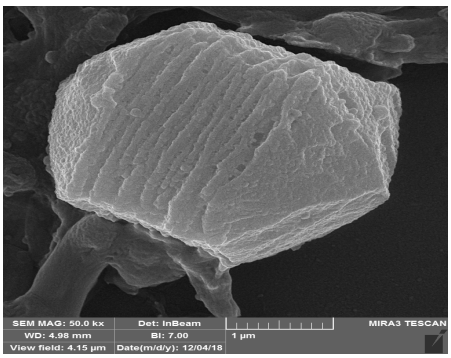
سطح نانوذرات طلا سنتز شده با مرکاپتوآندکانوییک اسید عامل دار شد. آنتی بادی OMPW به روش کوالانسی به سطح نانوذرات طلا متصل شد. از بیوکمپلکس Au/OMPW تصویر SEM تهیه شد (تصویر شماره 2). همان‌طورکه مشهود است مورفولوژی سطحی نانوذرات طلای متصل به آنتی‌بادی OMPW کاملا متفاوت از نانوذرات طلای خالی می‌باشد که نشان از تثبیت موفق آنتی‌بادی دارد هم‌چنین لازم به ذکر است که با اصلاح سطح نانوذرات طلا با آنتی‌بادی میزان پایداری نانوذره افزایش می‌یابد و امکان اگریگه شدن آن کم‌تر می‌گردد، زیرا دسترسی اتم‌های سطحی فلز طلا برای تجمع و کلوخه شدن کم‌تر می‌شود. همچنین این بیوکمپلکس در معرض باکتری قرار داده شد و بعد از اتصال باکتری و شستشو تصویری دیگر تهیه شد که در تصویر شماره 3 دیده می‌شود و اتصال باکتری به بیوکمپلکس Au/OMPW کاملا نمایان است.

اندازه گیری باکتری ویبریوکلرا توسط نانوذره طلای متصل به آنتی بادی OMPW

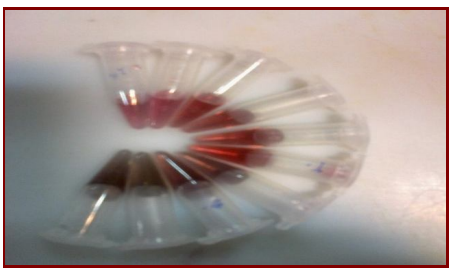
همان‌طورکه در تصویر شماره 4 مشاهده می‌شود با افزایش باکتری رنگ نمونه‌ها تغییر می‌یابد. این افزایش شدت رنگ ناشی از افزایش غلظت باکتری، به این دلیل است که نانوذرات طلا رزونانس پلاسمون جذب را در طول موج 600-500 نانومتر نشان می‌دهند که این طول موج با اندازه و خواص سطح نانوذرات طلا نسبت مستقیم دارد. هر چقدر نانو اندازه نانوذرات طلا بزرگ‌تر شود شدت پیک جذبی به سمت طول موج‌های بالاتر شیفت می‌کند. همان‌طورکه در نمودار شماره 4 دیده می‌شود با اتصال باکتری به نانوذرات طلای اصلاح شده با آنتی‌بادی OMPW پیک نانوذرات طلا به سمت قرمز جابه‌جا می‌شود و از طول موج 530 به 580 نانومتر شیفت پیدا می‌کند، لذا با افزایش باکتری شدت رنگ بیش‌تری مشاهده می‌شود که ارتباط مستقیمی با افزایش جذب دارد. بنابراین در مرحله بعد OD (میزان جذب)، نمونه‌ها با غلظت‌های مختلف باکتری توسط دستگاه فتومتر قرائت شد و منحنی کالیبراسیون رسم گردید. منحنی اندازه‌گیری باکتری *ویبریوکلرا* در نمودار شماره 5 دیده می‌شود.



تصویر شماره 2: میکروسکوپ الکترون روبشی از بیوکمپلکس نانوذرات طلای متصل به آنتی بادی OMPW

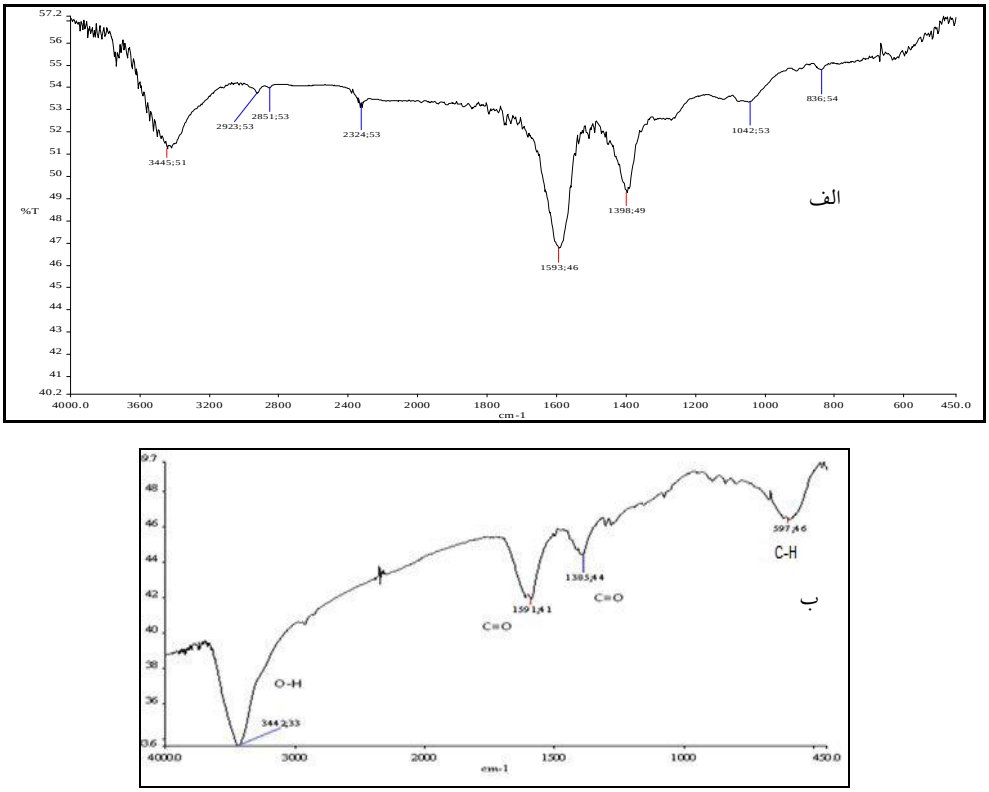


تصویر شماره 3: میکروسکوپ الکترون روبشی از باکتری *ویبریوکلرا* متصل به بیوکمپلکس Au/OMPW

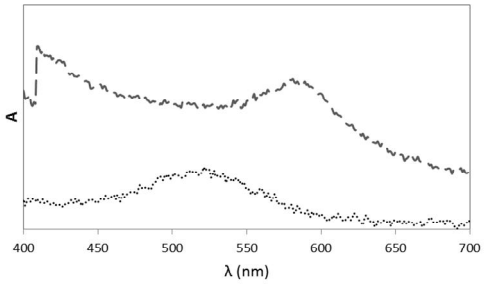


تصویر شماره 4: تغییرات چشمی رنگ نانوذرات طلا با افزایش باکتری *ویبریوکلرا* (از بالا به پایین)

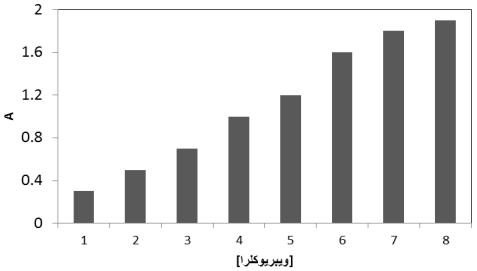
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]



تصویر شماره 3: الف: نمودار FTIR نانوذره طلا، ب: نانوذرات طلا/ آنتی بادی



نمودار شماره 4: اسپکتروسکوپی UV-Vis نانوذرات طلا در حضور باکتری (---) و بدون حضور باکتری (. . .)



نمودار شماره 5: منحنی اندازه گیری باکتری *ویبریوکلرا* توسط نانوذره طلای متصل به آنتی بادی OMPW

بحث

نانوذره طلا به واسطه خصوصیات ساختاری، اپتیکی، الکترونیکی و کاتالیستی منحصر به فردشان بسیار حائز اهمیت در حوزه نانو می‌باشد. آن‌ها نانوذراتی زیست سازگاری هستند که در مقایسه با بسیاری از نانوذرات دیگر تغییرات ساختاری و عملکردی کم‌تری در پروتئین‌ها ایجاد می‌کنند همچنین به لحاظ رنگی بودن و داشتن پیک شاخصی در ناحیه مرئی 500 تا 600 نانومتر، کاندید بسیار خوبی به عنوان شناساگر در حسگرها می‌باشند. تاکنون روش‌های متعددی برای سنتز نانوذرات طلا گزارش شده است که می توان از جمله آن به روشهای کاهش شیمیایی، میکروامولسیون، روش های فیزیکی و سنتز های گیاهی اشاره کرد. در این مطالعه نانوذرات طلا در قفس طبیعی آپوفریتین سنتز شد و سپس با تغییرات pH نانوذرات رهاسازی گردید که روشی ساده و کم هزینه می‌باشد و نیاز به تجهیزات

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

پیچیده و گران ندارد. نانوذرات طلای سنتز شده در آپوفریتین با اسپکتروسکوپی UV-Vis و نیز دستگاه DLS مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج نشان داد، توزیع نانوذرات طلای سنتز شده در آپوفریتین بسیار باریک هست و نانوذرات تقریبا کروی، هم اندازه و هم شکل در قفس آپوفریتین سنتز شده است. لازم به ذکر است توزیع هم‌شکل و هم اندازه نانوذرات طلا در استفاده از آن به عنوان شناساگر بسیار مهم می‌باشد، زیرا موجب باریک شدن پیک گستره جذب در اسپکتروسکوپی UV-Vis می‌شود. بنابراین خطای خواندن OD را کاهش می‌دهد و دقت حسگر را بالا می‌برد. در مرحله بعد این نانوذرات با عامل دار شدن توسط 11-مرکاپتودکانوئیک و با کمک EDC به آنتی‌بادی نوترکیب OMPW که بر علیه باکتری *ویبریوکلرا* می‌باشد، متصل شد و برای شناسایی باکتری *ویبریوکلرا* استفاده گردید. نتایج FT-IR نشان می‌دهد که آنتی‌بادی به خوبی بر روی نانوذره طلای سنتز شده در آپوفریتین تثبیت شده است و پیک‌های کششی پیوندهای پپتیدی دیده می‌شود. در مرحله بعد باکتری *ویبریوکلرا* بر روی نانوذره طلای کونژوگه با آنتی‌بادی ویبریوکلرا، افزوده شد. همان‌طورکه در تصویر شماره 4 دیده می‌شود با افزایش غلظت باکتری رنگ نمونه‌ها تغییر می‌یابد که با چشم نیز مشهود می‌باشد. سپس OD نمونه‌های به دست آمده در تصویر شماره 2 توسط دستگاه فتومتر قرائت شد و منحنی کالیبراسیون اندازه‌گیری باکتری *ویبریوکلرا* در شکل شماره 5 رسم گردید که غلظت‌های در گستره $10^4 \times 16\text{-}150$ cell/ml از باکتری *ویبریوکلرا* قابل اندازه‌گیری می‌باشد.

سپاسگزاری

از تمام کسانی که در انجام این مطالعه ما را حمایت و راهنمایی کردند از جمله گروه نانوبیوتکنولوژی علوم پزشکی بقیه‌الله نهایت سپاس و قدر دارنی را دارم.

References

1. La Spada L, Vegni L. Electromagnetic nanoparticles for sensing and medical diagnostic applications. Materials 2018; 11(4): 603.
2. Saratale RG, Saratale GD, Shin HS, Jacob JM, Pugazhendhi A, Bhaisare M, et al. New insights on the green synthesis of metallic nanoparticles using plant and waste biomaterials: current knowledge, their agricultural and environmental applications. Environ Sci Pollut Res Int 2018; 25(11): 10164-10183.
3. Lue J-T. A review of characterization and physical property studies of metallic nanoparticles. J Phys Chem Solids 2001; 62(9-10): 1599-1612.
4. Mohanraj V, Chen Y. Nanoparticles-a review. Trop J Pharm Res 2006; 5(1): 561-573.
5. Raval N, Maheshwari R, Kalyane D, Youngren-Ortiz SR, Chougule MB, Tekade RK. Importance of Physicochemical Characterization of Nanoparticles in Pharmaceutical Product Development. Basic Fundamentals of Drug Delivery: Elsevier; 2019. p. 369-400.
6. Elahi N, Kamali M, Baghersad MH. Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. Talanta 2018;184: 537-556.
7. 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): 209-217.
8. Corti CW, Holliday RJ, Thompson DT. Developing new industrial applications for

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

gold: gold nanotechnology. Gold Bulletin 2002; 35(4): 111-117.

9. Kawai T, Neivandt DJ, Davies PB. Sum frequency generation on surfactant-coated gold nanoparticles. J Am Chem Soc 2000; 122(48): 12031-12032.
10. Ruozi B, Veratti P, Vandelli MA, Tombesi A, Tonelli M, Forni F, et al. Apoferritin nanocage as streptomycin drug reservoir: Technological optimization of a new drug delivery system. Int J Pharm 2017; 518(1-2): 281-288.
11. Belletti D, Pederzoli F, Forni F, Vandelli MA, Tosi G, Ruozi B. Protein cage nanostructure as drug delivery system: magnifying glass on apoferritin. Expert Opin Drug Deliv 2017; 14(7): 825-840.
12. Rafipour R, Kashanian S, Hashemi S, Omidfar K, Dolatabadi JEN. Apoferritin-templated biosynthesis of manganese nanoparticles and investigation of direct electron transfer of MnNPs–HsAFr at modified glassy carbon electrode. Biotechnology and applied biochemistry 2017; 64(1): 110-116.
13. Banerjee K, Rai VR. A review on mycosynthesis, mechanism, and characterization of silver and gold nanoparticles. BioNanoScience. 2017;8(24).
14. Navarrete J, Siefe C, Alcantar S, Belt M, Stucky GD, Moskovits M. Merely measuring the UV–visible spectrum of gold nanoparticles can change their charge state. Nano Letters 2018; 18(2): 669-674.
15. Orner BP, Fan R, Chew SW, Cheong VV. Method for fabricating a gold nanoparticle. Google Patents; 2018.
16. Dashtestani F, Ghourchian H, Najafi A. Silver-gold-apoferritin nanozyme for suppressing oxidative stress during cryopreservation. Mater Sci Eng C 2019; 94: 831-840.
17. Alipour E, Ghourchian H, Boutorabi SM. Gold nanoparticle based capacitive immunosensor for detection of hepatitis B surface antigen. Analytical Methods 2013; 5(17): 4448-4453.
18. Zarei H, Ghourchian H, Eskandari K, Zeinali M. Magnetic nanocomposite of anti-human IgG/COOH–multiwalled carbon nanotubes/Fe3O4 as a platform for electrochemical immunoassay. Anal Chem 2012; 421(2): 446-453.
19. Saha K, Agasti SS, Kim C, Li X, Rotello VM. Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. Chem Rev 2012; 112(5): 2739-2779.
20. Nghiem THL, La TH, Vu XH, Chu VH, Nguyen TH, Le QH, et al. Synthesis, capping and binding of colloidal gold nanoparticles to proteins. Advances in Natural Sciences: nanoscience and Nanotechnology 2010; 1(2): 025009.
21. Song J, Huang P-C, Wan Y-Q, Wu F-Y. Colorimetric detection of thiocyanate based on anti-aggregation of gold nanoparticles in the presence of cetyltrimethyl ammonium bromide. Sens Actuators B Chem 2016; 222: 790-796.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]