Arsenic Calorimetric Sensor Design Using Aptasensor Based on Gold Nanoparticles

Masumeh Brati[1], Kamal Yavari[2]*, Mustafa Aghazadeh[2], Haniyeh Jafari[1]

1- Department of Biology, SRC, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran.

Abstract

Aim and Background: Nowadays, the presence of heavy metal contamination, including arsenic, in water resources and the environment seriously threatens human health. Numerous methods have been developed for the detection of arsenic; however, they are time-consuming and expensive. The use of aptasensors attached to gold nanoparticles suspended in water is a rapid and specific method that is performed using a probe with a high degree of selectivity. In this study, a colorimetric sensor based on an aptamer–nanoparticle system was presented for the rapid and in-situ detection of arsenic in aqueous solutions.

Materials and Methods: The arsenic-specific aptamer was designed using special software's. First, the gold nanoparticle-arsenic ion-specific aptamer complex was incubated for a specified time and room temperature. Then, arsenic samples were added to the complex at different concentrations and their sensitivity and specificity were determined using the naked eye and spectrophotometry.

Results: The sensitivity of the designed method for arsenic using the naked eye (colorimetric detection) was obtained as 0.1mM. No such color change was observed for other investigated heavy metals, indicating that this aptamer is not sensitive to structural changes induced by the other tested heavy metals and is specific only to arsenic.

Conclusion: The approaches evaluated in this study represent a rapid, inexpensive, and efficient method and have the potential to serve as a foundation for future biosensors.

Keywords: Aptasensors, Gold Nanoparticles, Arsenic, Colorimetric Detection.

Corresponding Author:
Kamal Yavari; Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran;
Email: kyavari@aeoi.org.ir

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

طراحی حسگر رنگ‌سنجیِ آرسنیک با استفاده از اُپتاسنسور بر پایهٔ نانوذرات طلا

معصومه براتی[۱]، کمال یاوری[۲*]، مصطفی آقازاده[۲]، هانیه جعفری[۱]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم‌وتحقیقات، تهران، ایران.
۲- پژوهشگاه علوم‌وفنون هسته‌ای، تهران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: امروزه وجود آلودگی‌های فلزاتِ سنگین از جمله آرسنیک در منابع آبی و محیط‌زیست، سلامت انسان را به‌شدت تهدید می‌کند. روش‌های زیادی برای شناساییِ آرسنیک ایجاد شده است که زمان‌بَر بوده و پُرهزینه می‌باشند. استفاده از اُپتاسنسورهای متصل به نانوذرات طلای سوسپانسیون‌شده در آب، روشی سریع و اختصاصی می‌باشد که با استفاده از یک پروپ با درجهٔ انتخاب‌پذیری بالا انجام می‌شود. در این پژوهش یک حسگر رنگ‌سنجی بر پایهٔ آپتامر-نانوذرات جهت شناساییِ سریع و درجای آرسنیک در محلول‌های آبی ارائه گردیده است.

مواد و روش‌ها: آپتامر ویژهٔ آرسنیک با استفاده از نرم‌افزارهای خاص طراحی شد. ابتدا کمپلکس نانوذرات طلا- آپتامر ویژهٔ یون آرسنیک در زمان مشخص و دمای اتاق انکوبه شد. سپس نمونه‌های آرسنیک در غلظت‌های مختلف به کمپلکس اضافه و حساسیت و گزینش‌پذیریِ آن‌ها با استفاده از چشم غیرمسلح و اسپکتروفتومتری مشخص گردید.

یافته ها: حساسیت روش طراحی‌شده برای آرسنیک با استفاده از چشم غیرمسلح (رنگ‌سنجی) ۰/۱ میلی‌مولار به‌دست آمد. چنین تغییر رنگی برای سایر فلزاتِ سنگین موردبررسی مشاهده نشد که نشان می‌دهد این آپتامر به تغییرهای ساختاریِ سایر فلزات سنگین موردبررسی حساس نیست و فقط برای آرسنیک اختصاصی است.

نتیجه‌گیری: رویکردهای ارزیابی‌شده در این تحقیق، روشی سریع، ارزان و با کیفیت بوده و قابلیت تبدیل شدن به پایه‌ای برای حسگرهای زیستیِ آینده را دارند.

واژگان کلیدی: اُپتاسنسور، نانوذرات طلا، آرسنیک، تشخیص رنگ‌سنجی.

نویسندهٔ مسئول: کمال یاوری؛ پژوهشگاه علوم‌وفنون هسته‌ای، تهران، ایران
پست الکترونیکی:kyavari@aeoi.org.ir

تاریخ دریافت:۱۴۰۳/۱۲/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳./۲۱

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

۱- مقدمه

درحال‌حاضر وجود آلودگی‌های فلزات سنگین در منابع آبی و محیط‌زیست، سلامت انسان‌ها را به‌شدت تهدید می‌کند؛ چراکه تجمع و عدم‌متابولیزه شدن این فلزات در بدن باعث بروز بیماری‌های مختلفی مانند آسیب سیستم عصبی، ناراحتی‌های گوارشی، دردهای عضلانی و سرطان می‌شوند. آلودگی‌های ناشی از سم فلزات سنگین در آب‌های آشامیدنی، سالیانه باعث مرگ ۳/۵ میلیون نفر در جهان می‌شود. فعالیت‌های انسانی، کودها و سموم شیمیایی، پیشرفت و توسعهٔ صنعت و عوامل طبیعی مانند آتشفشان‌ها از منابع ورود فلزات سنگین به محیط‌زیست به‌شمار می‌روند. سرب، جیوه، کادمیم، آرسنیک، مس و روی شایع‌ترین آلاینده‌های زیست‌محیطی می‌باشند (۱، ۲).

آرسنیک، یک عنصر بسیار سمی است که در محیط به‌وفور یافت می‌شود و مشخص شده است که بیماری‌های متعددی مانند آسیب‌های پوستی و مشکلات مربوط به سیستم گردش خون و خطر بالای ابتلا به سرطان در اثر سمیت با آرسنیک وجود دارد (۳، ۴). گرچه روش‌هایی مثل طیف‌سنجی جذب اتمی، کروماتوگرافی و طیف‌سنجِ جرمیِ پلاسما ابزارهایی بسیار حساس و دقیق برای سنجش مقادیر آلاینده‌های فلزات سنگین مثل آرسنیک در محیط هستند (۵، ۶). اما به‌دلیل هزینهٔ بالا، نیاز به تجهیزات پیشرفته، مراحل انجام خاص و پیچیده، وابستگی به پرسنل ماهر و زمان آنالیز نسبتاً طولانی آن‌ها، نیاز به طراحی روش‌های شناساییِ ساده، ارزان، سریع، حساس و انتخابی برای آرسنیک وجود دارد (۲).

در سال‌های اخیر، بیوسنسورهایی جهت شناسایی فلزات سنگین در محیط‌زیست طراحی و ساخته شده‌اند. این بیوحسگرها از توانمندیِ نانوذراتِ فلزی به‌عنوان پروب یا شناساگر رنگی استفاده می‌کنند. نانوذرات فلزی نظیر نانوذرات نقره، طلا و پلاتین به‌دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی به‌عنوان پروب حسگر بسیار موردتوجه می‌باشند (۷-۱۲).

خواص نوری و الکترونیکیِ نانوذرات طلا با تغییر اندازه و شکل قابل‌تنظیم می‌باشد. محلول کلوئیدیِ نانوذرات به‌دلیل جذب پلاسمونِ سطحی رنگ قرمز شدیدی را از خود نشان می‌دهد و قادر به تشخیص و شناسایی کوچک‌ترین تغییر در محیط اطراف خود می‌باشد. نانوذرات کروی‌شکلِ طلا به‌دلیل خواص نوری و الکترونیکیِ منحصربه‌فرد، آسانیِ روش سنتز و هزینهٔ پایین سنتز، از اهمیت ویژه‌ای در ساخت در طراحیِ حسگرهای زیستیِ مختلف برخوردارند (۱۹-۱۳).

نانوذراتِ طلا به‌دلیل تواناییِ اتصال به انواع بیومولکول‌ها و خاصیت کاتالیستی، در بسیاری از حسگرها از جمله حسگرهای آنزیمی، DNA و ایمونوحسگرها مورداستفاده قرار گرفته‌اند. ترکیبِ نانوذراتِ طلا در ساختار آپتامر، یکی از مهم‌ترین و جدیدترین حسگرهای زیستی است که در حوزه‌های کاریِ مختلف از جمله تصویربرداریِ زیستی، انتقالِ دارو، صنایع‌غذایی، بیوتروریسم و تشخیصِ مواد خطرناک موردتوجه زیادی قرار گرفته است (۱۴-۱۹).

آپتامرها، الیگونوکلئوتیدهای کوتاه دو یا تک‌رشته‌ای از جنس DNA و یا RNA هستند که مشابه آنتی‌بادی‌ها تواناییِ اتصالِ اختصاصی به هدفشان را دارند. پایه و اساسِ شناساییِ هدف توسط آپتامرها، تشکیل ساختار دوم و سوم القاشده توسط آنالیت می‌باشد. آپتامرها بسیار اختصاصی عمل می‌کنند و قدرت تمایز تغییرهای حتی جزیی در ساختارِ دو هدف مرتبط و نزدیک به‌هم را دارند. در سنجش‌های امروزی بسیاری از محققان آپتامرها را جایگزینِ آنتی‌بادی نموده‌اند، چون که آپتامرها مزایای زیادی نسبت به آنتی‌بادی‌ها دارند، از جمله این‌که آپتامرها نسبت به آنتی‌بادی‌ها پایدار بوده، ایمنی‌زایی و سمیّت پایین داشته و روش سنتز آسان و کم هزینه‌ای دارند (روش شیمیایی SELEX[1] در محیط آزمایشگاه) و نتیجهٔ حاصل از روش شناساییِ آنالیت با آپتامر نسبت به آنتی‌بادی‌ها ساده و کم‌هزینه می‌باشد (۲۰-۳۲).

در این پژوهش با استفاده از خاصیت پلاسمونِ سطحیِ نانوذراتِ طلا و تشکیل ساختارهای دوم و سوم آپتامر در حضور آرسنیک، آپتامر مخصوصِ آرسنیک با نانوذرات طلا کونژوگه گردید و از آن برای شناساییِ آرسنیکِ محلول استفاده شد. نتایج حاصل توسط مشاهدهٔ چشمی و اسپکتروفتومتری موردبررسی قرار گرفتند.

[1] Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی

آپتامر ویژهٔ آرسنیک بعد از طراحی با کیفیت HPLC در کمپانیِ Generay[1] سنتز شد. نانوذراتِ طلای استفاده‌شده به قطر ۱۵ نانومتر کروی و سیتراته به‌دلیل کاهش خطای احتمالی سنتز در این پژوهش از دو شرکت پیشگام نانومواد و نانومبنا (ایران) خریداری شد. سنتز نانوذرهٔ کرویِ طلا توسط این دو شرکت به‌روش ترکوویچ می‌باشد. بافر TE Buffer 1X و DEPC[2] از شرکت سیناکلون، سدیم نیترات، پتاسیم نیترات، نمک NaCl و سایر مواد مورداستفاده با خلوص ۹۹ درصد از شرکت Merck[3] تهیه گردید.

۲-۲- طراحی آپتامر ویژهٔ آرسنیک

آپتامر کل آرسنیک طی فرایندی به‌نام SELEX انتخاب و تعیین شده است. در این پژوهش یک آپتامر ۲۱ نوکلئوتیدی از توالیِ کل آرسنیک، طبق روش زیر طراحی شد:

توالیِ DNA کل آپتامر اختصاصیِ آرسنیک در پایگاه NCBI شناسایی و با استفاده از نرم‌افزارهای اختصاصی از قبیل Generunner، Oligo7 و OligoAnalyzer قطعه‌ای از آپتامر بلندرشته، طبق پروتکل طراحیِ آپتامر ایده‌آل جدا و انتخاب گردید. آپتامر طراحی‌شده از نظر ایجاد ساختارهای دوم سنجاق‌سری، انرژی، برهم‌کُنش نوکلئوتیدها با یکدیگر و مکمل آپتامر با استفاده از وب‌سرورهای اختصاصی BLAST (NCBI, USA)، mFold Web Server (University at Albany, USA) و RNA structure Software (University of Rochester, USA) موردبررسی قرار گرفت.

۲-۳- تعیین مشخصات کیفیِ نانوذرات طلا

نانوذرات طلا از شرکت پیشگام نانومواد و نانومبنا (ایران) خریداری شد. جهت اطمینان از خواص نانوذرات خریداری‌شده، میکروسکوپ الکترونیِ روبشی SEM[4] برای مشاهدهٔ تصاویر و اندازهٔ کروی نانوذرات طلا استفاده شد. ساختار بلوری نانوذرات طلا با استفاده از پراش اشعهٔ ایکس[5] ارزیابی شد. همچنین حداکثر جذب طول‌موج نانوذرات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-260[6] سنجیده شد.

۲-۴- آماده‌سازی آپتامر و تهیهٔ کمپلس آپتامر-نانوذرات طلا

به آپتامر لیوفیلیزهٔ طراحی‌شده، مطابق پروتکل شرکت، بافر TE به ویال اضافه شد تا غلظت ۱۰۰ میکرومول محلول استوک حاصل گردد. حال به‌منظور حفظ و جلوگیری از آلودگیِ محلولِ استوک، آلیکوت‌های آن در میکروتیوب‌های کوچک تقسیم کرده و سپس در فریزر با دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.

با توجه به آزمایشی که قرار است انجام شود، لوله‌های میکروتیوب RNase-DNase Free، را آماده کرده و از آپتامری که در فریزر ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌شود در زیر هودِ لامینار، ۱ میکرولیتر به داخل هر میکروتیوب افزوده شد. سپس به مقدار ۴۰ میکرولیتر از نانوذرات طلا به هر ویال اضافه کرده و پس از مخلوطِ ملایم به‌مدت ۱ ساعت در جای تاریک و دمای اتاق انکوبه شدند.

۲-۵- شناساییِ آرسنیک و بررسی حساسیت اُپتاسنسور

ابتدا غلظت‌های موردنیاز از آرسنیک تهیه گردیدند. و در میکروتیوب‌های مختلف، طبق پروتکل تهیهٔ نانواُپتاسنسور گفته‌شده در بالا، نانوذرات طلا با آپتامر کمپلکس شده و به‌مدت ۱ ساعت در تاریکی و دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) انکوبه گردیدند. سپس، از محلول‌های آرسنیک با غلظت‌های مختلف به میکروتیوب‌ها اضافه نموده و دوباره به‌مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شدند. در آخر، به‌داخل میکروتیوب‌ها، ۱۰ میکرولیتر از نمک NaCl ۰/۲۵میلی‌مولارِ سرد اضافه شد و بعد از گذشت ۳۰ دقیقه نتایج حاصل (تغییر رنگ یا تغییر طیف جذب نوری) با چشم غیرمسلح و همچنین با استفاده از اسپکتروفتومتر طیف‌سنج مرئی-فرابنفش مشاهده و آنالیز گردید.

۲-۶- بررسی گزینش‌پذیری اُپتاسنسور

در این مرحله جهت اثباتِ گزینش‌پذیری اُپتاسنسور ساخته‌شده، از عناصر دیگر کادمیم، کروم و سرب، روی، مس،

[1] Generay Biotech Co., Shanghai, China, HPLC purified
[2] Diethylpyrocarbonate
[3] Darmstadt, Germany
[4] Scanning Electron Microscope (SEM), Model: Sigma 300, ZEISS, ZEISS, Germany
[5] X-Ray Diffraction Model: X'Pert PRO, PANalytical, Netherlands XRD
[6] UV-Visible Spectrophotometer, Model: UV-2600, Shimadzu, Japan

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

پتاسیم، سدیم، نیکل و کبالت در شرایط و غلظت یکسان با آرسنیک طبق پروتکل بالا توسط اُپتاسنسور موردآنالیز قرار گرفتند. گزینش‌پذیریِ کیفی تغییر رنگ محلول‌ها، با چشم غیرمسلح و گزینش‌پذیریِ کمّی نیز توسط اسپکتروفتومتر طیف‌سنجِ مرئی-فرابنفش آنالیز گردید.

۳- نتایج

۳-۱- تشخیص آرسنیک با استفاده از اُپتاسنسور طلا

۳-۱-۱- آزمون حساسیت به‌صورت کیفی و کمّی

حساسیت اُپتاسنسور برای غلظت‌های ۰/۱ mM تا ۱۰ mM موردبررسی قرار گرفت. بسته به غلظت آرسنیک، رنگ محلول از قرمز روشن تا بنفش تیره تغییر یافت. تشکیل رنگ بنفش تیره بیانگر حساسیت کیتِ طراحی‌شده به‌صورتِ چشمی با حد تشخیص ۰/۱ میلی‌مولار و حد تشخیص پایین‌تر در اسپکتروفتومتری به‌دست آمد. در غلظت‌های بالاترِ آرسنیک، نانوذرات طلا به‌سرعت تجمع می‌یابند، چون‌که در غلظت‌های بالای آرسنیک، تمامی آپتامرها از نانوذرات طلا جدا شده و به آرسنیک متصل می‌شوند و در نتیجه نانوذرات طلا به‌راحتی توسط NaCl تجمع می‌یابند. این تجمع در حدی بود که با چشم غیرمسلح قابل‌مشاهده است. نتایج حاصل از تغییرِ رنگ حاصل به‌صورت کمّی، با استفاده از بررسیِ طیفِ مرئی-فرابنفش قابل‌اندازه‌گیری است. آپتامر خاص آرسنیک موجود در واکنش، در صورت عدم‌حضور آرسنیک فاقد ساختار خاصی است درحالی‌که در حضور آرسنیک، ساختاری تغییر شکل‌یافته و منظم را ایجاد می‌کند. در این صورت تمایل آپتامر به سطح نانوذرات طلا متفاوت می‌شود.

در این تست، طیفِ جذبیِ نانوذرات طلا-آپتامر در عدم‌حضور نمونه (آرسنیک) با اضافه شدن NaCl تغییری پیدا نکرد و در طول‌موج جذبی ۵۲۰ نانومتر بیشترین جذب را داشت که معرف نانوذرات طلای جدا از هم می‌باشد. در مقابل، شدت جذبِ نانوذرات طلا در حضور غلظت‌های مختلف آرسنیک، در ۵۲۰ کاهش یافته و با افزودن نمک شدتِ جذب در ناحیهٔ ۶۲۰ نانومتر افزایش پیدا کرد که متعلق به نانوذرات تجمع‌یافته می‌باشد. با توجه به اینکه ذرات طلای جدا از هم در ۵۲۰ نانومتر بیشترین جذب را دارند، اما هنگامی که ذرات طلا تجمع پیدا می‌کنند، در ۶۲۰ نانومتر بیشترین جذب را دارند (شکل ۲). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که آرسنیک با این آپتامر اتصال برقرار کرده است. به عبارت دیگر، آپتامری که در ابتدا با نانوذرات طلا اتصال برقرار کرده بود پس از اضافه کردن آرسنیک از نانوذرات طلا جدا گردیده و با آرسنیک کمپلکس شده است. نانوذرات طلای تجمع‌یافته‌شده از رنگ قرمز به بنفش کم‌رنگ تا غلیظ تغییر رنگ می‌دهند که با چشم نیز قابل‌مشاهده است (شکل ۱).

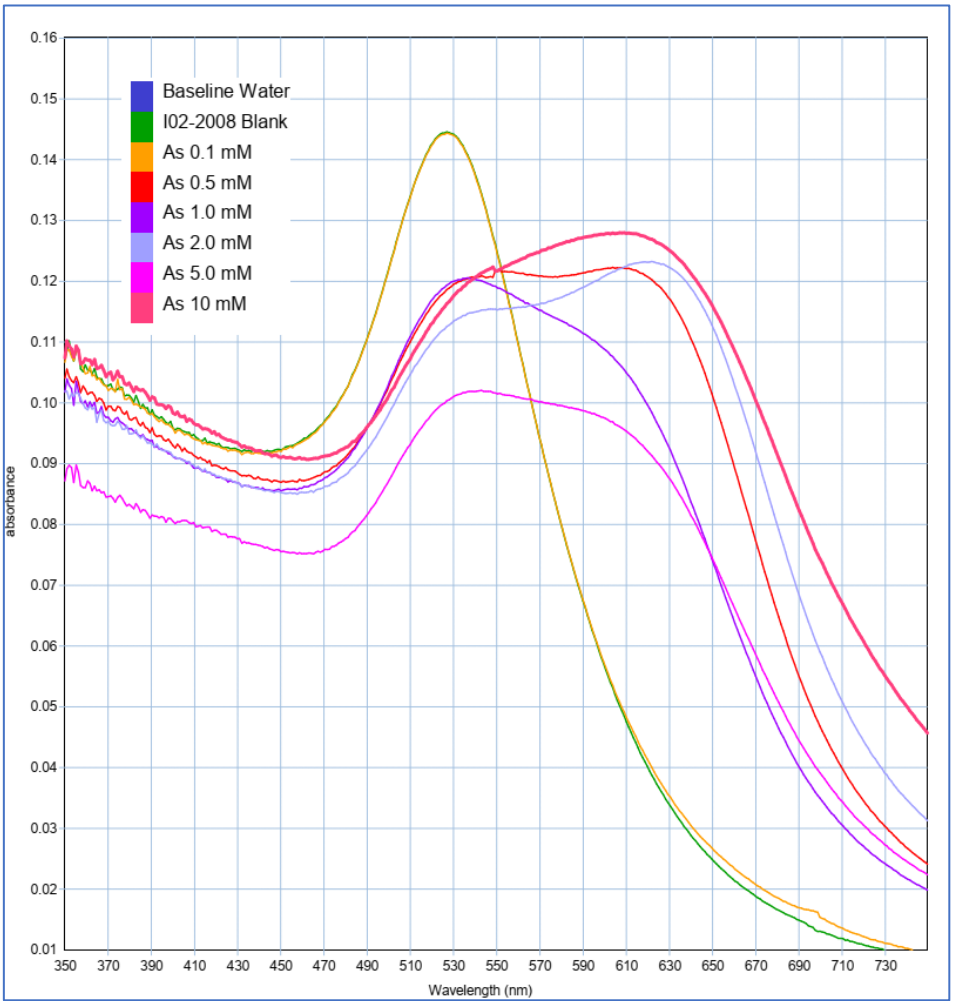


شکل ۱- بررسی نتایجِ آزمونِ حساسیت اُپتاسنسور ویژهٔ آرسنیک به‌صورت کیفی.

شکل ۲ طیف مربوط به UV-Vis را نشان می‌دهد، رنگ لیمویی متعلق به تست بلانک (کمپلکس آپتامر-نانوذرات بدون آرسنیک) می‌باشد که طول‌موج در همان جایگاه مربوط به نانوذرات طلا یعنی ۵۲۰ نانومتر باقی مانده است. درصورتی‌که در سایر طول‌موج‌ها یک شیفت یا انحراف طول‌موجی د یده می‌شود که مربوط به حضور یونِ

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

آرسنیک است که طول‌موج جذب را تغییر داده که علت آن نیز تجمیع نانوذرات طلا می‌باشد (۶۲۰ نانومتر).



شکل ۲- بررسیِ نتایجِ آزمونِ حساسیتِ اُپتاسنسور ویژۀ آرسنیک به‌صورت کمّی.

۳-۱-۲- تست گزینش‌پذیریِ اُپتاسنسور ویژۀ آرسنیک به‌صورت کیفی و کمّی

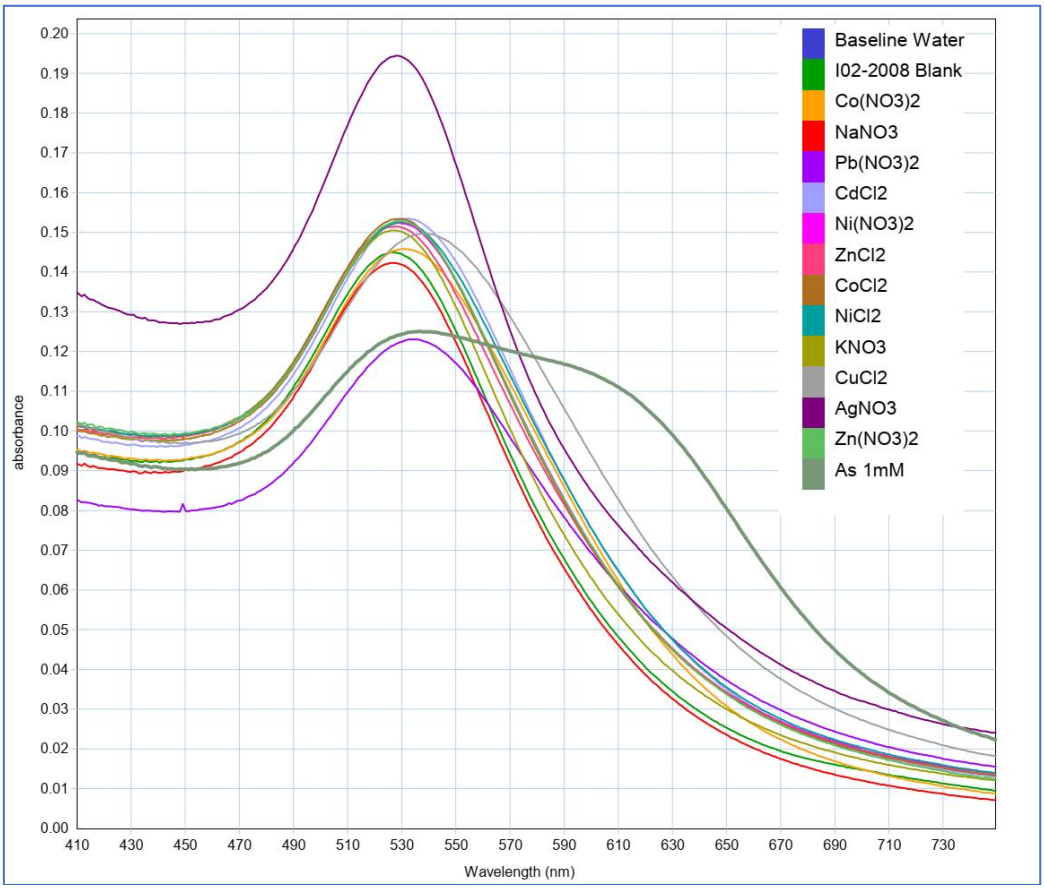
گزینش‌پذیری یکی از مهم‌ترین مؤلفه‌ها برای طراحی کیت می‌باشد. شکل‌های زیر نشان‌دهندۀ گزینش‌پذیری اُپتاسنسور طراحی‌شده برای آرسنیک به‌صورت کیفی (شکل ۳) و کمّی (شکل ۴) می‌باشد. همان‌طورکه ملاحظه می‌شود در نانوذرات موجود در اُپتاسنسور در حضور عناصر دیگری غیر از آرسنیک از قبیل کادمیم، کروم، مس، سرب، پتاسیم، سدیم، نیکل و کبالت با استفاده از این اُپتاسنسور ویژۀ آرسنیک تغییر رنگ دیده نشد و همانند بلانک قرمز باقی مانده است. امّا محلول حاوی آرسنیک (آنالیت هدف) از قرمز روشن به بنفش تیره‌تر تغییر رنگ داده است. این تغییر رنگ به‌دلیل تجمع نانوذرات طلا، شناسایی و اتصال آپتامر اختصاصیِ آرسنیک به فلز آرسنیک می‌باشد. بنابراین آرسنیک در کیت طراحی‌شده بدون نیاز به چشم مسلح و براساس تکنیک رنگ‌سنجی به آسانی قابل‌تشخیص می‌باشد (شکل ۳). در شکل ۴ مشاهده می‌شود که فلزات غیرآرسنیک به‌کاررفته در این مطالعه فقط در ۵۲۰ نانومتر جذب دارند، به عبارت دیگر جذب در ۵۲۰ در این آزمایش مربوط به نانوذرات طلا می‌باشد که نتوانسته‌اند تجمع پیدا کنند. به عبارت دقیق‌تر آنالیت‌های غیر از آرسنیک نتوانسته‌اند به این آپتامر اتصال پیدا کنند و این آپتامر اختصاصی برای آن‌ها نیست، بلکه برای آرسنیک اختصاصی می‌باشد. در شکل ۴ مشخص است که فقط آرسنیک به آپتامر متصل شده است و طیف جذب از ۵۲۰ نانومتر به ۶۲۰ نانومتر شیفت پیدا کرده است،

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

درحالی‌که جذب برای بقیهٔ آنالیت‌ها در همان محدودهٔ جذب نانوذرهٔ آزاد طلا یعنی ۵۲۰ نانومتر باقی مانده است.



شکل ۳- بررسی نتایج آزمونِ گزینش‌پذیری اُپتاسنسور ویژهٔ آرسنیک به‌صورت کیفی.



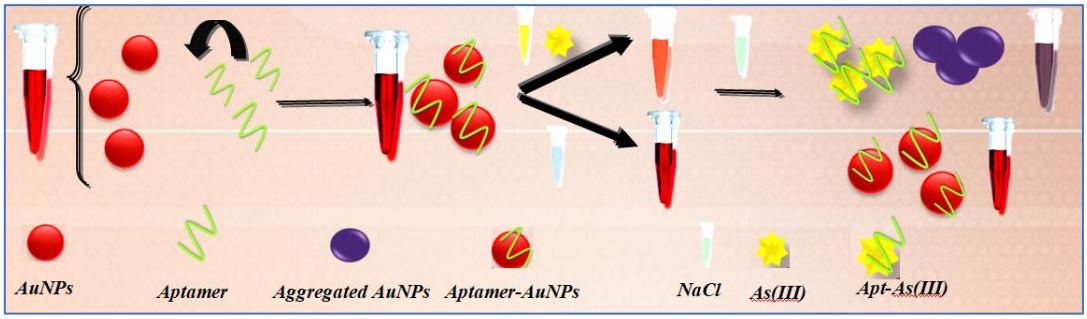
شکل۴- بررسی نتایج گزینش‌پذیری اُپتاسنسور ویژهٔ آرسنیک توسط UV-Vis.

۴- بحث

در سال‌های اخیر روش‌های مختلفی از جمله روش‌های فلورسانسی، الکتروشیمی و آنزیمی جهت شناسایی آرسنیک مورداستفاده قرار گرفته‌اند. اما محدودیت‌هایی مثل زمان‌بَر بودن و سختیِ انجام واکنش‌ها، محققان را برای پیدا کردن روش‌های ساده‌تر و کم هزینه‌تر، حساس‌تر و اختصاصی‌تر تشویق کرده است (۵، ۶ و۳۲). از جملهٔ این روش‌های

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

شناسایی آپتامرها می‌باشد. در شکل ۵ شمای آزمون رنگ‌سنجی بر پایهٔ نانوذراتِ کروی طلا برای شناسایی آرسنیک با استفاده از آپتامر DNA تک‌رشته‌ای به‌کاررفته در این پژوهش را نشان می‌دهد. در حالت عادی نانوذرات طلا به‌دلیل وجود یون‌های سیترات و دافعهٔ حاصل تجمع نمی‌کنند و در حالت آزاد باقی می‌مانند. توالی‌های تک‌رشته‌ای آپتامر آرسنیک به‌راحتی توسط بازهایش جذب سطح نانوذراتِ طلا می‌شود. افزودن مولکول آپتامر موجب اتصال DNA تک‌رشته‌ای آپتامر از طریق برهم‌کُنش‌های واندروالسی و الکترواستاتیکی بر روی سطحِ نانوذرات طلا و ایجاد حالت محافظتی در برابر تجمع نانوذرات به‌واسطهٔ نمک NaCl ۰/۲۵میلی‌مولار می‌شود (۳۳، ۳۴). درصورتی‌که علاوه‌بر آپتامر، عنصر آرسنیک نیز به کمپلکس موردنظر اضافه گردد، این مولکول تمایل به ایجاد ساختار ساقه و حلقهٔ دو رشته‌ای دارد. در آپتامر به‌صورت دو رشته‌ای بازهای نیتروژن حاوی بار مثبت در داخل و گروه‌های فسفات در بیرون ساختار قرار می‌گیرند (۳۴، ۳۵). درواقع در طی این فرایند همان‌طورکه قبلاً اشاره شد در حضور آنالیت (در اینجا آرسنیک) آپتامر از نانوذرات طلا جداشده و با تشکیل ساختار منحصربه‌فرد دوم و سوم و تشکیل ساقه-حلقه به آنالیت متصل می‌شود، تفاوت بین بارِ سطحیِ نانوذرات طلا و توالیِ آپتامر به حداقل می‌رسد و این امر موجب جلوگیری از محافظت نانوذرات به‌وسیلهٔ آپتامر شده و نمک NaCl به‌راحتی موجب تجمع آن‌ها می‌شود که با چشم غیرمسلح به‌راحتی قابل‌مشاهده است. حساسیّت کیت طراحی‌شده در این مطالعه به‌صورت چشمی با حد تشخیص ۰/۱ میلی‌مولار و حد تشخیص پایین‌تر در اسپکتروفتومتری به‌دست آمد. مطالعه‌های مشابهی توسط چن و همکارانشان روی پتاسیم انجام شده و تغییر رنگ ایجادشده در نانوذرات طلا با اضافه کردن پتاسیم مشاهده شده است (۲۴). همچنین اُپتاسنسور و نانوذرات طلا حتی برای اندازه‌گیری و تشخیص بیومولکول‌هایی مثل P53 مورداستفاده قرار گرفته (۳۶) و تغییر رنگ نانوذرات طلا از قرمز به بنفش به‌واسطهٔ حضور تومورمارکر مشاهده گردیده است. نتایج آزمایش‌های اختصاصی این مطالعه نشان دادند که آپتامر به‌طور اختصاصی توانایی تشخیصِ آرسنیک را دارد، به‌طوری‌که هنگام اضافه شدن آرسنیک محلول به کمپلکس آپتامر-نانوذرات طلا، آپتامر دچار تغییر ساختار دوم شده و از نانوذرات طلا جدا می‌شود و جذب آرسنیک می‌گردد. پس از جدا شدن آپتامر، نانوذرات طلا ناپایدار شده و با افزودن نمک بلافاصله تجمع پیدا کردند و این امر منجر به تغییر رنگ نانوذرات طلا از قرمز به رنگ بنفش گردید. در مورد سایر فلزات سنگینِ موردبررسی چنین تغییرِ رنگی مشاهده نشد، که نشان‌دهنده آن است که این آپتامر در برابر آن‌ها به تغییر ساختار حسّاس نیست و فقط اختصاصیِ آرسنیک می‌باشد.



شکل ۵- شمای آزمون رنگ‌سنجی بر پایهٔ نانوذرات کروی طلا برای شناساییِ آرسنیک با استفاده از آپتامر DNA تک‌رشته‌ای

Zhan و همکارانشان نیز پژوهش مشابهی را برای شناساییِ آرسنیک انجام داده‌اند. ایشان در تحقیقِ خویش از آپتامر DNA دو رشته‌ایِ طویل (۱۲۰ نوکلئوتید) استفاده کرده‌اند. در پژوهش موردمطالعهٔ Zhan و همکارانش اتصال غیراختصاصیِ جزییِ اُپتاسنسور با برخی فلزات مثل نقره و مس علاوه‌بر آرسنیک مشاهده می شود (۳۷). در این مطالعه از آپتامر کوتاه و DNA تک‌رشته‌ای استفاده گردید و اتصال غیراختصاصی با دیگر فلزات مشاهده نشد. در توجیه این تفاوت نتیجهٔ حاصل از دو مطالعه می‌توان گفت با اینکه روش های بیان‌شده از محدودهٔ تشخیصیِ بالایی برخوردار می‌باشند اما تشکیل DNA دو رشته‌ای فرایندی زمان‌بَر است و امکان دارد در طی فرایند آزمایش و عدم‌رعایت اصول، dsDNA به‌درستی

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

تشکیل نشده و حضور DNA تک‌رشته‌ای متصل‌نشده، نتایج را به‌صورت کاذب نشان دهد.

۵- نتیجه‌گیری

در این مطالعه یک استراتژی رنگ‌سنجی مبتنی‌بر آپتامر-نانوذرات طلا برای شناساییِ آرسنیک در محلولِ آبی استفاده شد. اساس تشخیص و شناساییِ آرسنیک، تمایل بالای آپتامر برای اتصال به آرسنیک مناسب و در نتیجه جدا شدن از نانوذرات طلا بود که منجر به تجمع نانوذرات طلا و تغییر رنگ از قرمز به بنفش و شیفت طول‌موج جذب از ۵۲۰ نانومتر متعلق به نانوذرات طلای آزاد به طول‌موج ۶۲۰ نانومتر متعلق به نانوذرات تجمع‌یافته در اثر حضور آرسنیک می‌باشد.

پس از بهینه‌سازیِ شرایط سنجش، آرسنیک محلول می‌تواند در محدودهٔ ۰/۱ میلی‌مولار به‌صورت چشمی و در غلظت‌های پایین‌تر توسط دستگاه UV-vis شناسایی شود. در مقایسه با سنسورهای قبلی، سنجش بر مبنای آپتامر رنگ‌سنجیِ آرسنیک سه مزیت را ارائه می‌دهد: اول، این سنجشِ ساده و راحت برای کار است، فرایندهای کار غیرپیچیده و معرّف‌های رایج درگیر هستند. دوم، روش شناسایی به‌طور قابل‌توجهی کوتاه‌تر است، که این سنجش را برای پایشِ سریعِ آرسنیک در کاربردهای مرتبط با محیط‌زیست و سایر کاربردها بسیار امیدوارکننده می‌کند. سوم، آپتامر کوتاه تک‌رشته‌ایِ طراحی‌شده در این پژوهش برای آرسنیک بسیار اختصاصی بوده، محدودیت‌های مربوط به آپتامرهای طویل دو رشته‌ای (تداخل با حضور یون‌های رقیب) را ندارد. در نهایت اینکه با توجه به قابلیت ردیابیِ نتایج به‌صورت چشمی، اُپتاسنسور طراحی‌شده برای آرسنیک، نویدبخش روشی ساده، سریع، کم‌هزینه و با دقت و حساسیتِ بالا جهت تشخیص آرسنیک در آیندهٔ نه‌چندان دور خواهد بود.

۶- تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری تخصصی می‌باشد و تمامی مراحل مطالعه در آزمایشگاه رادیوبیوشیمی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای انجام شده است. بدین وسیله از همکاران محترم این پژوهشگاه صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

۷- تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

۸- سهم نویسندگان

کمال یاوری: طراحیِ ایدهٔ پژوهش، نظارت علمی، طراحی آپتامر و آنالیزهای بیوانفورماتیکی، انجام آزمایش‌ها، جمع‌آوری و تحلیل داده‌ها و ویرایش نهایی مقاله.

مصطفی آقازاده: مشاوره در به‌کارگیری و تعیین مشخصات نانوذرات.

هانیه جعفری: مشاوره در تحلیل نتایج اسپکتروفتومتری.

معصومه براتی: انجام آزمایش‌ها، جمع‌آوری داده‌ها و نگارش اولیهٔ مقاله.

۹- کد اخلاق

مقاله ملاحظه اخلاقی ندارد؛ مقاله فاقد مطالعات سلولی، حیوانی و انسانی می‌باشد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

۱۰- منابع

1. Kumar P, Gacem A, Ahmad MT, Yadav VK, Singh S, Yadav KK, Alam MM, Dawane V, Piplode S, Maurya P, Ahn Y. Environmental and human health implications of metal(loid)s: source identification, contamination, toxicity, and sustainable clean-up technologies. *Front Environ Sci*. 2022; 10:949581.
2. Karthik V, Selvakumar P, Senthil K, et al. Biosensor for heavy metals detection in wastewater: a review. *Food Chem Toxicol*. 2022; 168:113307.
3. Hughes MF, Beck BD, Chen Y, Lewis AS, Thomas DJ. Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. *Toxicol Sci*. 2011;120(1):305-32.
4. Francisco A, Greta D, Marco G. Arsenic speciation analysis of environmental samples. *J Anal at Spectrom*. 2020;35(2):215-37.
5. Alispahic A, Krivohlavek A, Galic N. Novel preservation methods for inorganic arsenic speciation in model and natural water samples by stripping voltammetric method. *Appl Sci*. 2021;11(19):8811.
6. Ammann AA. Arsenic speciation analysis by ion chromatography: a critical review of principles and applications. *Am J Anal Chem*. 2011;2(1):27-36.
7. Li Y, Liao Q, Hou W, Qin L. Silver-based surface plasmon sensors: fabrication and applications. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4):4142.
8. Luo X, Morrin A, Killard AJ, Smyth MR. Nanoparticles in electrochemical biosensors. *Encycl Nanoscience Nanotechnol*. 2011; 47:3-501.
9. Ramesh M, Janani R, Deepa C, Rajeshkumar L. Nanotechnology-enabled biosensors: a review of fundamentals, design principles, materials, and applications. *Biosens Bioelectron*. 2022;13(1):40.
10. Malhotra BD, Ali MA. Nanomaterials in biosensors: fundamentals and applications. *Nanomaterials for Biosensors*. 2017; 1:1-20.
11. Holzinger M, Le Goff A, Cosnier S. Nanomaterials for biosensing applications: a review. *Front Chem*. 2014; 2:63.
12. Yu L, Song Z, Peng J, Yang M, Zhi H, He H. Progress of gold nanomaterials for colorimetric sensing based on different strategies. *TrAC Trends Anal Chem*. 2020; 127:115880.
13. Hao F, Nehl CL, Hafner JH, Nordlander P. Plasmon resonances of a gold nanostar. *Nano Lett*. 2007;7(3):729-32.
14. Roya A, Zeinab SA, Sohameh M. The application of DNA-functionalized gold nanoparticles for detection of metabolites and nucleic acids in personalized medicine. *Pers Med J*. 2021;6(21):23-29.
15. Tiwari PM, Vig K, Dennis VA, Singh SR. Functionalized gold nanoparticles and their biomedical applications. *Nanomaterials*. 2011;1(1):31-63.
16. Alexa G, Filippo P, Nelson T, Cesare U, Timothy JB, Luciano DS. Thermoplasmonics with gold nanoparticles: a new weapon in modern optics and biomedicine. *Adv Photonics Res*. 2021;2(8):1-17.
17. Farah R, Manije Z, Jun F, Khaled G. Therapeutic applications of nanomedicine: recent developments and future perspectives. *Molecules*. 2024;29(9):2073-2080.
18. Ghosh P, Han G, De M, Kim CK, Rotello VM. Gold nanoparticles in delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008;60(11):1307-15.
19. Huang X, Jain PK, El-Sayed IH, El-Sayed MA. Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy. *Nanomedicine*. 2007;2(5):681-93.
20. Chen Z, Chengwei Z, Haoquan L, et al. Advances and mechanisms of RNA–ligand interaction predictions. *Life*. 2025;15(1):104-120.
21. Katherine G, Marissa L, Xiaoting Z. RNA aptamers and their therapeutic and diagnostic applications. *Int J Biochem Mol Biol*. 2013;4(1):27-40.
22. Kowalczyk MS, Douglas R, Gingeras TR. Molecular biology: RNA discrimination. *Nature*. 2012;482(7385):310-11.
23. Peyrin E. Nucleic acid aptamer molecular recognition principles and application in liquid chromatography and capillary electrophoresis. *J Sep Sci*. 2009;32(10):1531-6.
24. Radi AE, O'Sullivan CK. Aptamer conformational switch as sensitive electrochemical biosensor for potassium ion recognition. *Chem Commun*. 2006; 32:3432-4.
25. Tang Z, Parekh P, Turner P, Moyer RW, Tan W. Generating aptamers for recognition of virus-infected cells. *Clin Chem*. 2009;55(4):813-22.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

26. Chen HW, Medley CD, Sefah K, Shangguan D, Tang Z, Meng L, Smith JE, Tan W. Molecular recognition of small-cell lung cancer cells using aptamers. *ChemMedChem*. 2008;3(6):991-1001.
27. Zhen SJ, Huang CZ, Wang J, Li YF. End-to-end assembly of gold nanorods on the basis of aptamer−protein recognition. *J Phys Chem C*. 2009;113(52):21543-7.
28. Li X, Zhang W, Liu L, Zhu Z, Ouyang G, A Y, Zhao C, Yang CJ. In vitro selection of DNA aptamers for metastatic breast cancer cell recognition and tissue imaging. *Anal Chem*. 2014;86(13):6596-603.
29. Brody EN, Gold L. Aptamers as therapeutic and diagnostic agents. *Rev Mol Biotechnol*. 2000;74(1):5-13.
30. Varatharasa T, David GG. Aptamers and the next generation of diagnostic reagents. *Proteomics Clin Appl*. 2012; 6:563-73.
31. Liu J, Guan Z, Lv Z, Jiang X, Yang S, Chen A. Improving sensitivity of gold nanoparticle-based fluorescence quenching and colorimetric aptasensor by using water resuspended gold nanoparticle. *Biosens Bioelectron*. 2014; 52:265-70.
32. Hashemnia A, Hakimzadeh V. Proprietary diagnosis of aflatoxin G1 based on aptasensor colorimetry using gold nanoparticles suspension. *Iran Food Sci Technol Res J*. 2019;15(4):433-439.
33. Yang C, Wang Y, Marty JL, Yang X. Aptamer-based colorimetric biosensing of ochratoxin A using unmodified gold nanoparticles indicator. *Biosens Bioelectron*. 2011;26(5):2724-7.
34. Li H, Rothberg L. Colorimetric detection of DNA sequences based on electrostatic interactions with unmodified gold nanoparticles. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(39):14036-9.
35. Ikram UK. Synthesis and characterization gold nanoparticles using polymeric micelles to induce block copolymer composition. *Biosens Nanotheranostics*. 2022;1(1):1-8.
36. Thakur MS, Shwetha N, Selvakumar LS. Aptamer–nanoparticle-based chemiluminescence for p53. *Anal Biochem*. 2013;437(2):137-56.
37. Zhan S, Yu M, Lv J, Wang L, Zhou P. Colorimetric detection of trace arsenic (III) in aqueous solution using arsenic aptamer and gold nanoparticles. *Aust J Chem*. 2014;67(5):813-8.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]