Chula Med J Vol. 53 No. 6 November-December 2009

อนุภาคทองนาโนสำหรับการตรวจวินิจฉัย ดีเอ็นเอ และโปรตีน

โรจน์ฤทธิ์ โรจนธเนศ *
อมรพันธุ์ เสรีมาศพันธุ์**

Rojanathanes R, Sereemaspun A. Gold nanoparticle: a novel tool for DNA and protein detection. Chula Med J 2009 Nov - Dec; 53(6): 465 - 75

With the advance of nanotechnology, many new innovations for biomedical used have been publicly implemented. Gold nanoparticles have been developed and applied into wide variety of fields including in medical diagnosis. Thanks to its versatile surface which can be modified with many biological probes, specific detections can then be achieved. Either simple and quick detections or sophisticate but sensitive measurement can be established with these nanoparticles. In this article, some distinct applications of colloidal gold particle as a latest diagnostic gadget, especially for DNA and protein detection, are summarized. These advantages propose a new promising medical diagnostic tool that is capable of clinical use in this nanomedicine era.

Keywords : *Gold, Nanoparticle, Nanomedicine, Biosensor, DNA, Protein.*

Reprint request: Rojanathanes R. Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Rama 4 Road, Patumwan District, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. May 5, 2009.

* ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
** ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โรจน์ฤทธิ์ โรจนธเนศ, อมรพันธุ์ เสรีมาศพันธุ์. อนุภาคทองนาโนสำหรับการตรวจวินิจฉัยดีเอ็นเอ และโปรตีน. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2552 พ.ย. - ธ.ค.; 53(6): 465 - 75

ด้วยความก้าวหน้าของนาโนเทคโนโลยี ปัจจุบันมีนวัตกรรมหลายอย่างที่ผลิตออกมาสู่สาธารณะ เพื่อการประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ อนุภาคทองคำนาโนได้รับการพัฒนาและประยุกต์ใช้ในหลากหลายสาขา รวมไปถึงการวินิจฉัยทางคลีนิก อันเนื่องมาจากพื้นผิวที่สามารถปรับแต่งด้วยเครื่องมือตรวจวัดทางชีวภาพหลายชนิด ทำให้สามารถทำการตรวจวัดได้อย่างจำเพาะ อนุภาคนาโนนี้สามารถพัฒนาให้ได้การตรวจวัดที่ง่ายและรวดเร็ว หรืออาศัยขั้นตอนที่ซับซ้อนเพื่อการวัดที่ว่องไวก็ได้ ในบทความนี้จะกล่าวถึงการนำอนุภาคทองคำนาโนมาประยุกต์ ใช้เป็นเครื่องมือตรวจวินิจฉัยทางการแพทย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแง่การตรวจหาดีเอ็นเอและโปรตีน ซึ่งประโยชน์ของอนุภาคทองคำนาโนเหล่านี้เป็นตัวอย่างแสดงถึงความสามารถที่จะนำอุปกรณ์ใหม่เหล่านี้มาเป็นเครื่องมือใช้วินิจฉัยทางคลินิกได้ในการแพทย์ยุคนาโน ดังเช่นปัจจุบัน

คำสำคัญ: *ทองคำ, อนุภาคนาโน, nanomedicine, อุปกรณ์รับรู้, ดีเอ็นเอ, โปรตีน*

อนุภาคทองคำนาโน (gold nanoparticles หรือ AuNPs) เป็นอนุภาคของทองคำขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร ซึ่งการที่ขนาดของอนุภาคของคำเล็กมากเช่นนี้จะทำให้สมบัติทางกายภาพบางประการของอนุภาคทองคำแตกต่างไปจากทองคำที่มีขนาดใหญ่ทั่วไป ประการที่สำคัญประการแรก คืออนุภาคทองคำขนาดเล็กนี้สามารถกระจายแขวนลอยอยู่ในน้ำ หรือตัวทำละลายชนิดอื่นได้ง่าย เมื่อมีสารช่วยทำให้เสถียรที่เหมาะสมอยู่ด้วย การละลายกระจายตัวในน้ำนี้จะได้สารที่มีสมบัติเป็นคอลลอยด์ขึ้น [1,2] นอกจากนั้นขนาดที่เล็กระดับนาโนเมตรจะทำให้สามารถแทรกตัวผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ได้ง่าย นอกจากนั้นขนาดที่เล็กมากนี้ยังอาจสามารถถูกเซลล์จับและนำเข้าไปในเซลล์ได้ง่ายอีกด้วย[3, 4] โดยสมบัติอีกประการหนึ่งที่สำคัญคือสมบัติเชิงแสงของอนุภาคทองคำ เนื่องจากอนุภาคโลหะสามารถดูดกลืนแสงได้โดยพลังงานแสงดังกล่าวจะใช้ในการกระตุ้นอิเล็กตรอนที่พื้นผิวของโลหะให้มีระดับพลังงานที่สูงขึ้น เรียกว่าปรากฏการณ์พลาสมอนเรโซแนนซ์ที่พื้นผิว (surface plasmon resonance) [5] เมื่ออนุภาคโลหะดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นหนึ่ง ๆ ไปจะทำให้แสงที่ผ่านออกมาปรากฏเป็นสีที่แตกต่างกัน โดยพลังงานแสงหรือความยาวคลื่นแสงที่อนุภาคโลหะดูดกลืนไปนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะ รูปร่างและขนาดของอนุภาคโลหะ โดยสามารถแสดงเป็นสมการได้ด้วยทฤษฎีของ Mie G. [6] ดังนี้

$$E(\lambda)=\frac{24\pi N_A a^3 \varepsilon^{3/2} m}{\lambda \ln 10}\left[\frac{\varepsilon_i(\lambda)}{\{\varepsilon_r(\lambda)+2\varepsilon_m\}^2+\varepsilon_i^{\,2}(\lambda)}\right]$$

เมื่อ

N_A คือรัศมีของอนุภาค

ε_m คือค่าคงที่ไดอิเล็กตริกของตัวกลาง

λ คือความยาวคลื่น

ε_r คือส่วนจำนวนจริงในฟังก์ชันไดอิเล็กตริก

ε_i คือส่วนจำนวนจินตภาพในฟังก์ชันไดอิเล็กตริก

จากความสัมพันธ์ของ Mie G. ดังกล่าวพบว่าอนุภาคทองคำสัณฐานเป็นทรงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางราว 10 นาโนเมตรจะมีสีแดง ส่วนอนุภาคที่มีขนาดไม่เป็นทรงกลม หรือมีขนาดใหญ่ หรือเล็กกว่า ก็จะปรากฏเป็นสีแตกต่างกันออกไป นอกจากนั้นสีของอนุภาคทองคำยังขึ้นอยู่กับดัชนีหักเหแสงของสารที่พื้นผิวของอนุภาคโลหะด้วย[7]

ด้วยสมบัติต่าง ๆ เหล่านี้เอง เมื่อเกิดการกระตุ้นให้อนุภาคทองคำนาโนเกิดการเปลี่ยนแปลงที่พื้นผิว ขนาด และ รูปร่าง ก็จะทำให้สีของอนุภาคทองคำนาโนเปลี่ยนแปลงไปด้วย จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเป็นอุปกรณ์รับรู้ (sensor) สำหรับตรวจจับสารทางเคมี ชีวเคมี และ ใช้งานทางการแพทย์ได้ โดยทำหน้าที่เป็นหน่วยรายงานผลในระบบเซ็นเซอร์ โดยปกติเซ็นเซอร์จะมีองค์ประกอบที่สำคัญอยู่สองส่วนด้วยกันคือ หน่วยจับ (receptor) และหน่วยรายงานผล (signalling unit) เมื่อหน่วยตรวจจับรวมตัวกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้แล้ว หน่วยรายงานผลก็จะตอบสนองออกมา[8] ดังนั้น หากตรึงสารที่มีความสามารถจับกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้อย่างจำเพาะเจาะจงไว้บนผิวของอนุภาคทองคำนาโนได้แล้ว ก็จะสามารถสร้างเซ็นเซอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงเหมาะแก่การตรวจหาสารที่ต้องการได้ ถ้าการจับตัวกันดังกล่าวสามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับอนุภาคทองคำนาโนได้[9]

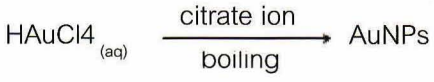
การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน

อนุภาคทองคำนาโนที่นิยมใช้ในทางการแพทย์นั้นนิยมที่จะสังเคราะห์ขึ้นในน้ำ หรือมีน้ำเป็นตัวกลาง เนื่องจากเข้ากันกับระบบทางชีวภาพได้ง่ายกว่า โดยการเตรียมคอลลอยด์ของทองคำนาโนในน้ำนั้นได้เริ่มมีมาตั้งแต่ก่อนคริสตวรรษที่ 4 หรือ 5 ในประเทศจีน และอียิปต์ [10] และได้รับการศึกษาพัฒนาต่อมา จนมีหลักฐานการเตรียมคอลลอยด์ของทองคำเพื่อใช้ในทางการแพทย์มาตั้งแต่ศตวรรษที่ 17 โดย Antonii F.[11] ในปัจจุบันการ

นำเอาอนุภาคทองคำนาโนมาใช้ในทางการแพทย์อาจแบ่งออกได้หลัก ๆ เป็นสองสายงานที่สำคัญ คือ การนำไปใช้เป็นเครื่องมือตรวจวัดทางชีวภาพ (biosensor) [12] และการนำไปใช้ในการถ่ายภาพทางการแพทย์ (medical imaging) [13] บทความนี้จะขอกล่าวถึงการนำคอลลอยด์ของอนุภาคทองคำนาโนไปประยุกต์ใช้ในการเป็นเครื่องมือตรวจวัดทางชีวภาพเป็นหลัก

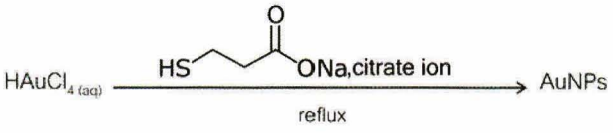
การสังเคราะห์อนุภาคทองคำในน้ำในปัจจุบันมักจะพัฒนาขึ้นจากวิธีของ Turkevitch J. [1] ซึ่งใช้การรีดิวซ์สารละลายไอออนของทองคำ Au^{3+} ด้วยการต้มกับสารละลายโซเดียม ซิเตรต อนุภาคทองคำนาโนที่เตรียมได้จะมีไอออนซิเตรตล้อมรอบและทำหน้าที่เป็นสารช่วยทำให้เสถียร (stabiliser) ไปด้วยในตัว โดยป้องกันการจับตัวรวมกันของอนุภาคทองคำจนมีขนาดใหญ่และตกตะกอนออกมาจากสารละลาย

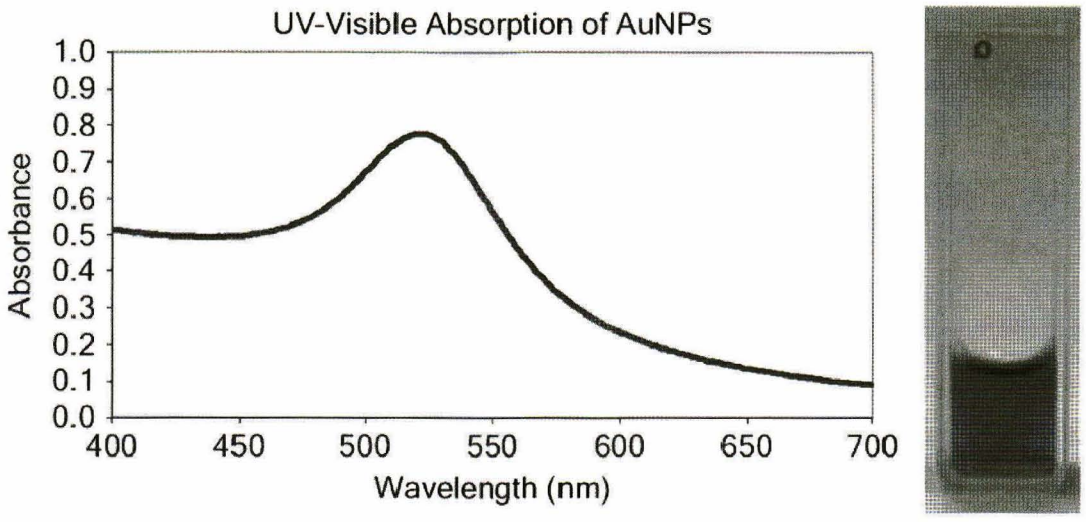
การเตรียมสารละลายคอลลอยด์ของอนุภาคทองคำนาโนด้วยวิธีรีดิวซ์ด้วยซิเตรตนั้นสามารถแสดงได้ด้วยสมการต่อไปนี้



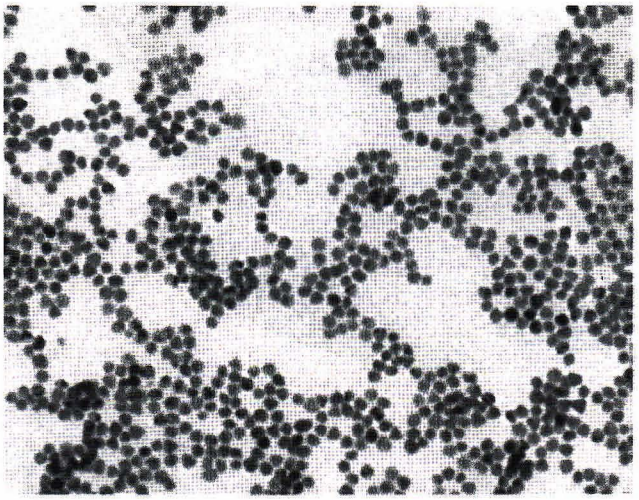
วิธีนี้จะสามารถเตรียมอนุภาคทองคำนาโนที่มีขนาดสม่ำเสมอ เป็นทรงกลมที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางราว 9 นาโนเมตร[14] และปรากฏเป็นคอลลอยด์สีแดง มีช่วงการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และมีสีเข้มแม้ว่าจะมีความเข้มข้นที่ต่ำมากเพียง 44 ppm ก็ปรากฏเป็นสีแดงเข้มอย่างชัดเจน สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและภาพ TEM แสดงในรูปที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

นอกจากซิเตรตแล้วยังสามารถเตรียมอนุภาคทองคำนาโน โดยมีสารอื่นเป็นสารช่วยทำให้เสถียรได้อีก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เนื่องจากซัลเฟอร์สามารถสร้างพันธะกับทองคำได้แข็งแรงมาก เช่น เกลือ 3-mercaptopropionate ที่พัฒนาขึ้นโดย Yonezawa T. และคณะ[16] ดังแสดงในสมการต่อไปนี้





รูปที่ 1. สเปกตรัมการดูดกลืนแสง [14] และ สารละลายสีแดง[15] ของทองคำนาโนที่มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 9 นาโนเมตร ความเข้มข้น 44 ppm



รูปที่ 2. TEM ของอนุภาคทองคำนาโนขนาด 9 นาโนเมตรที่เตรียมได้จากวิธีการรีดิวซ์ด้วยเกลือซิเตรต[14]

นอกจากนั้นยังสามารถเตรียมโดยใช้สายพอลิเมอร์เป็นสารช่วยทำให้เสถียรได้อีกด้วย โดยสายพอลิเมอร์ที่ใช้อาจจะเป็นสายพอลิเมอร์สังเคราะห์ [17, 18] หรือพอลิเมอร์ในธรรมชาติก็ได้[19, 20]

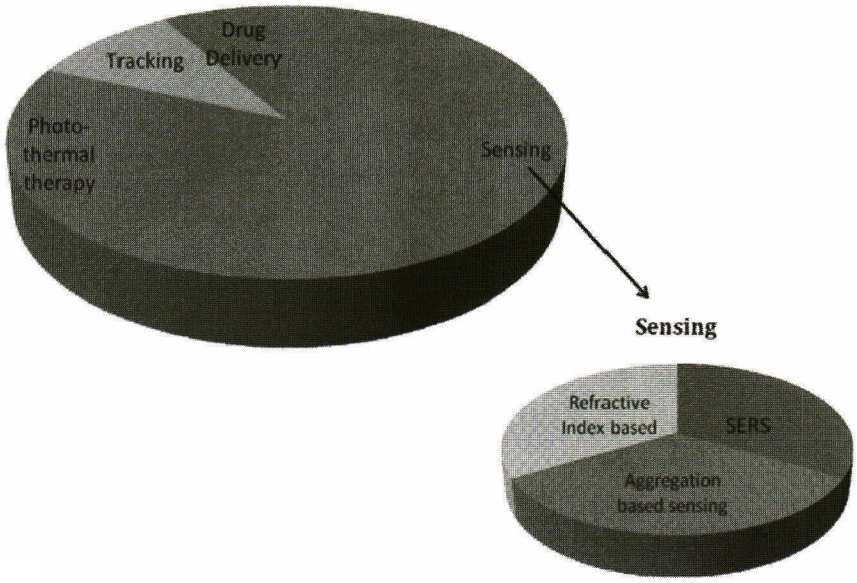
การใช้อนุภาคทองคำนาโนเป็นเซนเซอร์

สาเหตุที่สำคัญอีกประการหนึ่ง ที่อนุภาคทองคำนาโนได้ถูกนำมาใช้งานในการเป็นเครื่องมือตรวจวัดทางชีวภาพอย่างกว้างขวางก็คือ การเปลี่ยนสีที่สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า (naked eye detection) เมื่อเกิดการรวมตัวกันของอนุภาค ซึ่งการรวมตัวกันเป็นกลุ่มของอนุภาคทองคำนาโนสามารถเกิดขึ้นได้จากการกระตุ้นด้วยสิ่งเร้าภายนอกเช่น pH[21] หรือความเป็นไอออนิกในสารละลาย [22] เป็นต้น ซึ่งการรวมตัวกันจะเกิดได้ยากหรือง่ายย่อมขึ้นอยู่กับสารช่วยทำให้เสถียรที่ล้อมรอบอนุภาคทองคำนาโนอยู่ จึงทำให้สามารถทำการวินิจฉัยได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือราคาสูงหรือขั้นตอนสร้างสีที่ยุ่งยากซับซ้อนอีก นอกจากนั้นยังสามารถพัฒนาขึ้นเป็นชุดตรวจวัดได้ง่าย

เนื่องจากอนุภาคทองคำนาโนทำหน้าที่เป็นเพียงหน่วยแสดงผล หลักการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพจากอนุภาคทองคำนี้ ส่วนมากจึงเป็นเพียงการตรึงสารที่สามารถเลือกจำเพาะในการตรวจหาสารที่สนใจลงบนอนุภาคทองคำ หากเกิดการเปลี่ยนแปลงที่อนุภาคทองคำเมื่อเกิดการจับตัวเข้ากับสารที่ต้องการวิเคราะห์ ก็จะสามารถสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงนั้นได้จากสีของคอลลอยด์ที่เปลี่ยนไป ขั้นตอนที่สำคัญประการหนึ่งคือการตรึงหน่วยตรวจวัดไว้บนพื้นผิวของอนุภาคทองคำ

ปัจจุบันการใช้อนุภาคทองคำนาโนในงานทางชีววิทยาการแพทย์โดยส่วนมากเกินกว่าร้อยละ 50 คือการนำไปใช้เป็นเซนเซอร์ โดยอาศัยสมบัติด้านดัชนีหักเหแสง หรือ สมบัติการตกตะกอนของอนุภาคในการตรวจวัดสารอื่น นอกจากนั้นยังมีการนำไปใช้ในงานทางด้านอื่นๆ เช่น การติดตามการเปลี่ยนแปลงภายในของเซลล์ การใช้เป็นสารขนส่งยา เป็นต้น ดังแสดงในแผนภูมิในรูปที่ 3[23]

โดยปรกติทองคำนาโนจะต้องได้รับการปรับปรุงพื้นผิวก่อนด้วยสารที่มีความจำเพาะในการตรวจจับสารที่ต้องการ เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ วินิจฉัย ได้อย่างจำเพาะเจาะจง ซึ่งทำให้การใช้งานของทองคำนาโนยุ่งยากซับซ้อนขึ้น โดยอาจจะแบ่งคร่าว ๆ ได้เป็น 3 ชนิดหลัก ได้แก่ การปรับปรุงพื้นผิวด้วยสายของกรดนิวคลีอิกเพื่อตรวจหา DNA หรือ RNA ที่ต้องการ การปรับปรุงพื้นผิวด้วยแอนติบอดี เพื่อหาแอนติเจนที่ต้องการ และ



รูปที่ 3. แผนภูมิแสดงสัดส่วนการประยุกต์ใช้งานทางชีววิทยาการแพทย์ของอนุภาคทองคำนาโนในด้านต่าง ๆ[23]

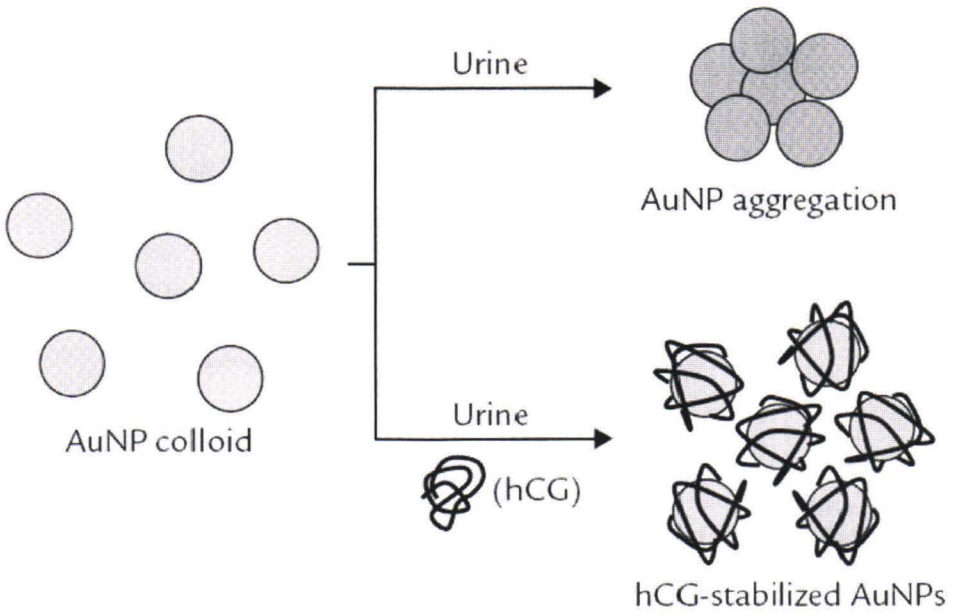
การปรับปรุงพื้นผิวด้วยสารเคมี อื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตาม การประยุกต์ใช้งานในการตรวจวิเคราะห์บางอย่างก็ไม่จำเป็นต้องมีการปรับปรุงพื้นผิวของทองคำนาโนก่อนก็ได้ หากสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์นั้นสามารถมีอันตรายกิริยากับอนุภาคทองนาโน หรือเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับอนุภาคทองนาโนได้โดยตรง

การใช้อนุภาคทองคำนาโนที่ไม่ปรับปรุงพื้นผิวเป็นเซ็นเซอร์

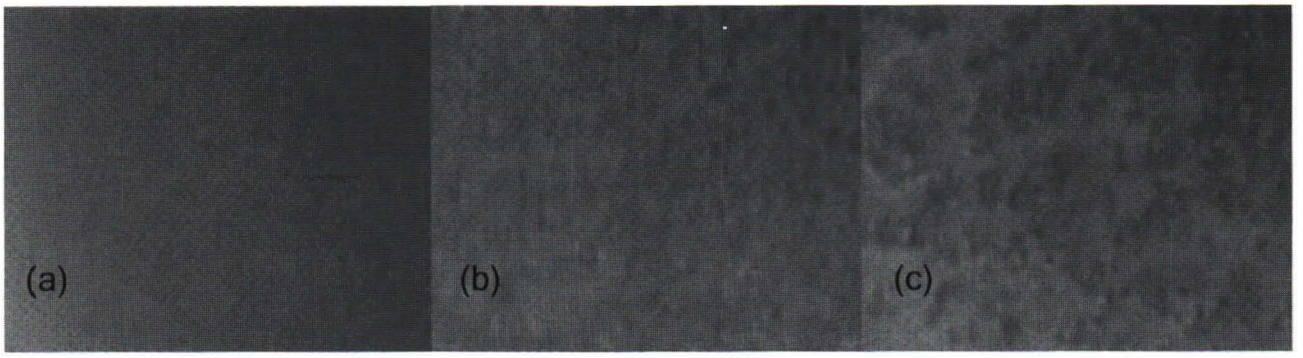
จากคุณสมบัติที่อนุภาคทองคำนาโนเปลี่ยนสีได้เมื่อเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคจากการกระตุ้นด้วยสิ่งเร้าภายนอกโดยเฉพาะอย่างยิ่งไอออนต่าง ๆ ที่อยู่ในสารละลาย ดังนั้นสารตัวอย่างที่มีไอออนต่าง ๆ ละลายอยู่จึงสามารถนำมาวิเคราะห์ด้วยอนุภาคทองคำนาโนได้ เช่น การวิเคราะห์การตั้งครรภ์จากปัสสาวะ [24] เนื่องจากปัสสาวะมีไอออนชนิดต่าง ๆ อยู่มากมายซึ่งไอออนต่างๆ เหล่านี้จะกระตุ้นให้อนุภาคทองคำนาโนเกิดการรวมตัวกันได้ง่าย จึงทำให้สีของสารละลายคอลลอยด์ทองคำนาโน เปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงินได้ เมื่อเติมปัสสาวะผสมลงไป แต่สำหรับปัสสาวะของสตรีมีครรภ์นั้นจะมีสายโปรตีน hCG อยู่ ซึ่งสามารถเข้าล้อมรอบอนุภาคทองคำนาโนได้ จึงป้องกันไม่ให้อนุภาคทองคำนาโนรวมกลุ่มกันและเกิดการเปลี่ยนสีได้ ทำให้สารละลายผสมระหว่างอนุภาคทองคำนาโนและปัสสาวะของสตรีมีครรภ์ยังคงมีสีแดงอยู่ สามารถแสดงกลไกการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้ดังรูปที่ 4

ด้วยความสามารถในการจับตัวกันระหว่างสายโปรตีนและอนุภาคทองคำนาโน จึงมีการนำเอาอนุภาคทองคำนาโนไปตรวจวินิจฉัยโปรตีนอื่น ๆ ในสารตัวอย่างได้หลากหลาย เช่นการตรวจวิเคราะห์หา โปรตีนไมโครอัลบูมินในปัสสาวะ [25] ก็สามารถใช้กลไกเดียวกันกับการตรวจวินิจฉัยการตั้งครรภ์ได้

นอกจากนั้นยังมีการนำไปช่วยวิเคราะห์หมู่เลือดได้เช่นกัน โดยพบว่าหมู่เลือด B3 ชนิดอ่อน ที่เกิดการตกตะกอนกับแอนติ B3 ได้เพียงเล็กน้อยจะสามารถกระตุ้นให้เห็นการเปลี่ยนแปลงได้อย่างชัดเจนเมื่อใช้สารละลายคอลลอยด์ของอนุภาคทองคำนาโนร่วมด้วย ดังรูปที่ 5 [26]



รูปที่ 4. กลไกการป้องกันการรวมกลุ่มของอนุภาคทองคำนาโนด้วย hCG ที่อยู่ในปัสสาวะของสตรีมีครรภ์[24]

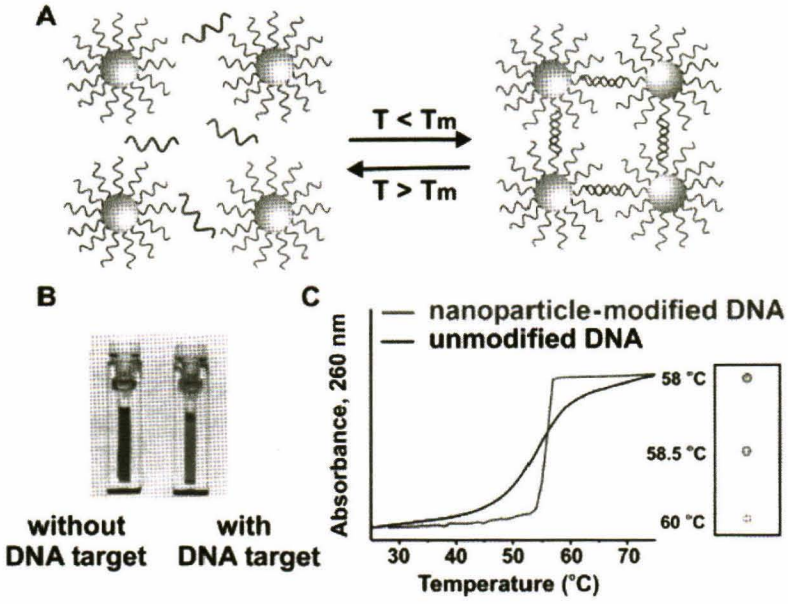


รูปที่ 5. (a) สไลด์หมู่เลือด B3 ชนิดอ่อน (b) สไลด์หมู่เลือด B3 ชนิดอ่อนเมื่อตกตะกอนด้วยแอนติ B (c) สไลด์หมู่เลือด B3 ชนิดอ่อนเมื่อตกตะกอนด้วยแอนติ B ร่วมกับสารละลายทองคำนาโน [26]

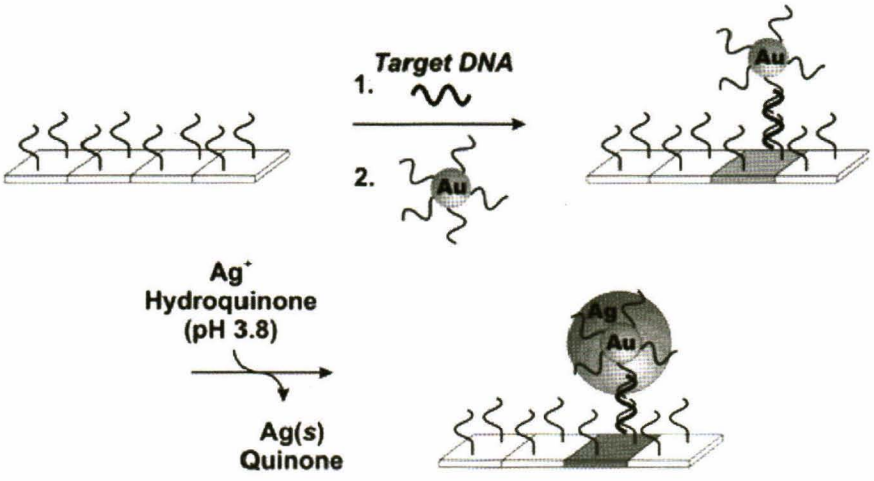
การใช้อนุภาคทองคำนาโนที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยกรดนิวคลีอิก

โดยส่วนมากการวิเคราะห์สาย DNA นั้นจะอาศัยการจับตัวกันของคู่สาย DNA โดยนำสายที่เข้ากันได้กับสาย DNA ที่ต้องการวิเคราะห์มายึดติดบนอนุภาคทองคำนาโน เมื่อมีสาย DNA ที่ต้องการวิเคราะห์ผมเข้ามาก็จะเกิดการยึดจับกันได้ ระบบหนึ่งที่ได้ผลดีคือ แบ่งสายที่ใช้ตรวจหาออกเป็นสองส่วนอยู่บนอนุภาคทองคำคนละอนุภาคกัน เมื่อมีสาย DNA เป้าหมายเข้ามา ก็จะเป็นตัวเชื่อมให้อนุภาคทองคำทั้งสองชนิดเข้ามารวมตัวกันได้ เกิดการเหนี่ยวนำให้สีของสารละลายคอลลอยด์เปลี่ยนไป[27] ดังแสดงในรูปที่ 6

นอกจากการทดสอบในระบบสารละลายแล้ว ยังสามารถทำการทดสอบบนสารรองรับสถานะของแข็งได้ด้วย เช่น การนำสาย DNA ที่สัมพันธ์กับ DNA เป้าหมายครึ่งหนึ่งตรึงอยู่บนสารรองรับของแข็ง อีกครึ่งหนึ่งตรึงบนพื้นผิวของอนุภาคทองคำนาโน สาย DNA เป้าหมายจะเป็นตัวเชื่อมในอนุภาคทองคำนาโนมายึดติดลงบนสารรองรับสถานะของแข็งนั้น ซึ่งจะสามารถเพิ่มความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสีได้มากขึ้น โดยเหนี่ยวนำให้อนุภาคเงินเข้ามาเคลือบบนผิวของอนุภาคทองคำนาโนอีกต่อหนึ่ง[28] ดังรูปที่ 7 หลังจากนั้นจึงแสกนเพื่อตรวจวัดโลหะเงิน ด้วยวิธีนี้จะทำให้สามารถวิเคราะห์ DNA ได้ถึงความเข้มข้นระดับ 33 fM



รูปที่ 6. (a) การรวมกลุ่มกันของอนุภาคทองคำนาโนที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยสาย DNA โดยการกระตุ้นด้วย DNA เป้าหมาย (b) สีของสารละลายคอลลอยด์ทองคำนาโนก่อนและหลังการกระตุ้นด้วยสาย DNA เป้าหมาย (c) กราฟการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการดูดกลืนแสงของสารละลายและจุดสีบนแผ่นซิลิกา [27]



รูปที่ 7. การใช้อนุภาคทองคำนาโนร่วมกับการรีดิวซ์โลหะเงินลงบนทองคำ[28]

นอกจากวิธีต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วยังสามารถวิเคราะห์โดยอาศัยไฟฟ้าร่วมด้วยก็ได้ เพราะอนุภาคทองคำนาโนเป็นโลหะ เมื่อเกิดการรวมกลุ่มกันจะสามารถใช้กระบวนการทางไฟฟ้าในการตรวจสอบได้ด้วยเช่นกัน [29]

การใช้อนุภาคทองคำนาโนที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยโปรตีน

เนื่องจากทองคำนาโนสามารถมีอันตรกิริยากับหมู่ไทออล (—SH) หรือ แอมโมเนียม ($—NH_3^+$) ได้ดี จึงทำให้ทองคำนาโนสามารถจับตัวกับสายโปรตีนได้หลากหลายชนิด[30] จึงมีความพยายามในการนำคุณสมบัติดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ เพื่อปรับปรุงผิวหน้าของทองคำด้วยสายโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้แอนติบอดีมาตรึงบนผิวของอนุภาคทองคำนาโน เพื่อตรวจหาโปรตีนบางชนิด

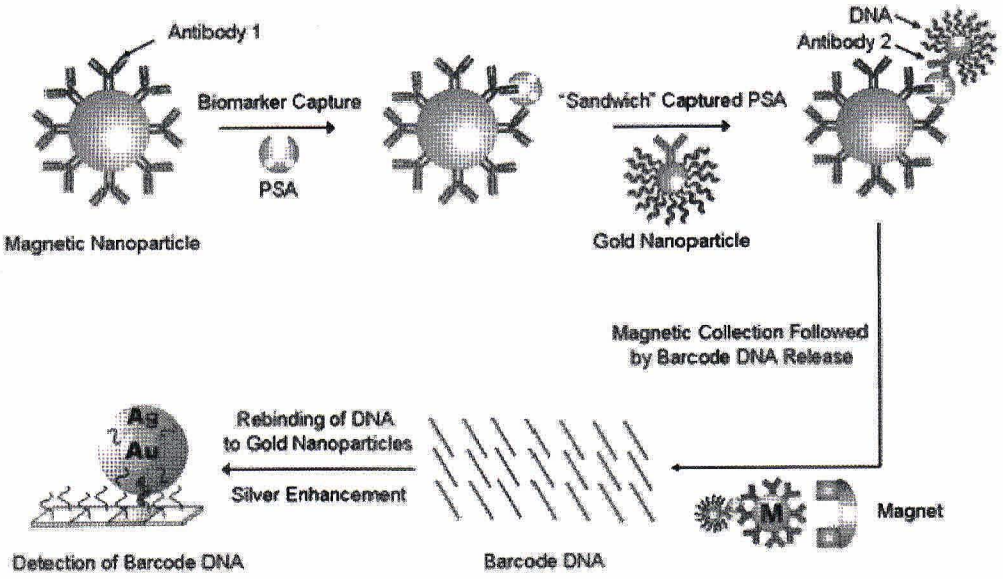
ด้วยหลักการเปลี่ยนสีเมื่อทองคำนาโนเกิดการรวมตัวกัน ทองคำนาโนที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยแอนติเจนที่เหมาะสมจะสามารถรวมกลุ่มกันล้อมรอบโปรตีนเป้าหมายได้ และสังเกตได้ง่ายจากการเปลี่ยนสีของสารละลาย[31] ทำให้สามารถตรวจหาโปรตีนได้อย่างรวดเร็วและมีความว่องไวสูงเทียบเท่ากับการวิเคราะห์ด้วย ELISA

ซึ่งการวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าวนอกจากจะทำในระบบสารละลายแล้ว ยังสามารถทำบนสารรองรับของแข็งได้เช่นเดียวกัน ซึ่งจะสามารถใช้การวิเคราะห์เชิงแสง โดยวัดการกระเจิงของแสงที่ส่องกระทบบนทองคำนาโนที่ตรึงบนวัสดุรองรับ ด้วยวิธีนี้จะทำให้ความว่องไวในการตรวจวัดสูงขึ้นด้วย[32]

นอกจากการใช้ระบบแอนติเจน แอนติบอดีจะใช้ในการรวจหาโปรตีนได้โดยตรงแล้ว ยังสามารถใช้ระบบนี้ในการวิเคราะห์ DNA ได้ด้วย โดยอาจเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ DNA ได้ถึงในระดับ 500 zM เมื่อใช้ร่วมกับเทคนิค บาร์โคด และ อนุภาคแม่เหล็กนาโน [33] ดังแสดงในรูปที่ 8 โดยใช้แอนติบอดีต่อโปรตีนที่ต้องการตรวจหาตรึงบนอนุภาคแม่เหล็กและอนุภาคทองคำ ซึ่งอนุภาคทองคำนอกจากจะมีแอนติบอดีแล้วยังมีบาร์โคด DNA ตรึงร่วมอยู่ด้วย เมื่อเกิดการรวมตัวกันด้วยโปรตีนเป้าหมายแล้วจึงแยกออกจากสารละลายทดสอบด้วยแม่เหล็กแล้วจึงทำการปลดบาร์โคด DNA ออก แล้วทำการตรวจหา DNA บาร์โคดแทน จึงเป็นเทคนิคที่ให้ความไวสูงได้เทียบเท่ากับการทำ PCR

สรุปและทิศทางในอนาคต

เนื่องจากอนุภาคทองคำนาโน เป็นอนุภาคที่สามารถปรับปรุงผิวหน้าได้ง่าย ทำให้เปิดกว้างในการนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านต่าง ๆ ได้สะดวกและยังสามารถพัฒนาไปได้อีกในหลายแขนง รวมถึงสามารถขยายขีดจำกัดการวิเคราะห์ต่าง ๆ ออกไปได้ จึงนับได้ว่าเป็นอนุภาคแห่งอนาคตที่ยังสามารถเติบโตไปได้อีกยาวไกล



รูปที่ 8. การใช้อนุภาคทองคำนาโนร่วมกับอนุภาคแม่เหล็กนาโน[33]

อ้างอิง

1. Turkevitch J, Stevenson PC, Hillier J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. Discuss Faraday Soc 1951; 11: 55-75
2. Templeton AC, Wuelfing WP, Murrey RW. Monolayer-protected cluster molecules. Acc Chem Res 2000 Jan; 33(1): 27-36
3. Wiwanitkit V, Sereemaspun A, Rojanathanes R. Visualization of gold nanoparticle on the microscopic picture of red blood cell: implication for possible risk of nanoparticle exposure. Stoch Environ Res Risk Assess 2008 Jun; 22(4): 583-5
4. Cho WS, Cho M, Jeong J, Choi M, Cho HY, Han BS, Kim SH, Kim HO, Lim YT, Chung BH, Jeong J. Acute toxicity and pharmacokinetics of 13 nm—size PEG—coated gold nanoparticles. Toxicol Appl Pharm 2009 Apr 1; 236(1): 16 - 24
5. Otto A. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection, Zeitschrift fur Physik, 1968 Aug; 216(4): 398 - 410
6. Mie G. Beitrage zur optik truber medien,. speziell kolloidaler metallosungen. Annalen der Physik 1908; 330(3): 377 - 445
7. Mock JJ, Smith DR, Schultz S. Local refractive Index dependence of plasmon resonance spectra from individual nanoparticles. Nano Lett 2003; 3(4): 485 - 491
8. Fabbrizzi L, Poggi A. Sensors and switches from supramolecular chemistry. Chem Soc Rev 1995; 24(3): 197 - 202
9. Nam JM, Thanxton CS, Mirkin CA. Nanoparticle-based bio-bar codes for the ultrasensitive detection of proteins. Science 2003;301: 1884 - 6
10. Daniel MC, Astruc D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum – size - related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. Chem Rev 2004; 104(1): 293 - 346
11. Antonii F. Panacea Aurea-auro potabile. Bibliopolio frobeniano: Hamburg, 1618
12. Himmelhaus M, Takei H. Cap-shaped gold nanoparticles for an optical biosensor. Sensors and Actuators B: Chemical 2000 Apr; 63(1 - 2): 24 - 30
13. Geddes CD, Parfenov A, Gryczynski I, Lakowicz JR. Luminescent blinking of gold nanoparticles. Chem Phys Lett 2003; 380(3-4): 26972
14. Sereemaspun A, Rojanathanes R, Wiwanitkit V. Effect of gold nanoparticle on renal cell: an implication for exposure risk. Ren Fail 2008; 30(3): 323 - 5
15. Sereemaspun A, Hongpiticharoen P, Rojanathanes R, Maneewattanapinyo P, Ekgasit S, Warisnoicharoen W. Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by metallic nanoparticles: a preliminary to nanogenomics. Int J Pharm 2008; 4(6): 492 - 5
16. Yonezawa T, Kunitake T. Practical preparation of anionic mercapto ligand - stabilized gold nanoparticles and their immobilization. Colloids Surfaces A: Photochem Eng Aspects 1999; 149(1): 193 - 9

17. Liu Y, Cheng SZD, Wen X, Hu J. Preparing and stabilizing colloidal nanoparticles with a helical synthetic polymer. Langmuir 2002; 18(26): 10500 - 2
18. Otsuka H, Nagasaki Y, Kataoka K. PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications. Adv Drug deliver Rev 2003;55(3):403 - 19
19. Bahadur KCR, Aryal S, Bhattarai SR, Kim CH, Kim HY. Stabilization of gold nanoparticles by hydrophobiccally - modified polycations. J Biomater Sci Polymer Ed, 2006; 17(5): 579 - 89
20. Wang RH, Hu ZG, Liu YY, Lu HF, Fei B, Szeto YS, Chan WL, Tao XM, Xin JH. Self-assembled gold nanoshells on biodegradable chitosan fibers. Biomacromolecules 2006; 7(10): 2719 - 21
21. Zhou JF, Ralston J, Sedev R, Beattie DA. Functionalized gold nanoparticles: synthesis, structure and colloid stability. J Colloid Interface Sci 2009 Mar; 331(2): 251 - 62
22. Shipway AN, Lahav M, Gabai R, Willner I. Investigations into electrostatically induced aggregation of Au nanoparticles. Langmuir 2000; 16 (23): 8789 -95
23. Murphy CJ, Gole AM, Stone JW, Sisco PN, Alkilani AM, Goldsmith EC, Baxter SC. Gold nanoparticles in biology: beyond toxicity to cellular imaging. Acc Chem Res 2008; 41(12): 1721 - 30
24. Rojanathanes R, Sereemaspun A, Pimpha N, Buasorn V, Ekawong P, Wiwanitkit V. Gold nanoparticle as an alternative tool for a urine pregnancy test. Taiwan J Obstet Gynecol 2008 Sep;43(3): 296 - 9
25. Wiwanitkit V, Sereemaspun A, Rojanathanes R. Gold nanoparticle as an alternative tool for urine microalbumin test: the first world report. Ren Fail 2007; 29(8): 1047 - 8
26. Wiwanitkit V, Sereemaspun A, Rojanathanes R. Increasing the agglutination reaction in slide test for weak B blood group by gold nanoparticle solution: The first world report. J Immunol Methods 2007 Dec 1; 328(1 - 2), 201 - 3
27. Elghanian R, Storhoff JJ, Mucic RC, Letsinger RL, Mirkin CA. Selective colorimetric detection of polynucleotides based on the distance-dependent optical properties of gold nanoparticles. Science 1997 Aug 22; 277(5329): 1078 - 80
28. Taton TA, Mirkin CA, Letsinger RL. Scanometric DNA arrays detection with nanoparticle probes. Science 2000 Sep 8; 289(5485): 1757 - 60
29. Park SJ, Taton TA, Mirkin CA. Array - based electrical detection of DNA with nanoparticle probes. Science 2002 Feb 22; 295(5559): 1503 - 6
30. De Roe C, Courtoy PJ, Baudhuin P. A model of protein-colloidal gold interactions. J Histochem Cytochem 1987 Nov; 35(11): 1191 - 8
31. Hirsch LR, Jackson JB, Lee A, Halas NJ, West JL. A whole blood immunoassay using gold nanoshells. J Anal Chem 2003 May 15; 75(10): 2377 - 81
32. Lin CC, Yang YM, Chen YF, Yang TS, Chang HC. A new protein A assay based on Raman reporter labelled immunogold nanoparticles, Biosens Bioelectron 2008 Oct 15; 24(2): 178-83
33. Nam JM, Stoeva S, Mirkin C. Bio - bar - code - based DNA detection with PCR like sensitivity. J Am Chem Soc 2004 May 19; 126(19): 5932 - 3