

金奈米粒子生物感測器之合成與應用

周詩偉、江宗翰、鄭淨月*

嘉南藥理大學，生物科技系

金奈米粒子 (Gold Nanoparticles, AuNPs) 是目前最為廣泛研究的生醫材料，因 AuNPs 具生物相容性、穩定性、光學活性、並藉由表面電漿共振，可容易判斷分子修飾及粒徑是否增加等優勢，更重要的是，製備相當容易且安全。

我們使用檸檬酸 (Tri-Sodium citrate, $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) 作為還原劑，與四氯金酸 (Hydrogen tetrachloroaurate, $\text{HAuCl}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$) 反應，利用檸檬酸與四氯金酸之不同比例濃度製備出 13、15、33、99 nm 之 AuNPs。實驗中，33 nm 之 AuNPs 與常見蛋白質反應有顯著變化，因此選 33 nm AuNPs 為生物感測器；在檢測蛋白質中，將牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 稀釋後並加入 33 nm AuNPs 製作標準曲線，發現粒徑 33 nm 之 AuNPs 具有顯色劑的效果，但線性範圍不大。AuNPs 與金屬溶液、革蘭氏陰性菌及陽性菌反應，並檢測其偵測極限 (limit of detection, LOD)，其金屬離子及菌種偵測極限分別為鉀離子 $8.35 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$ 、鈉離子為 0.0103 g/mL 、銅離子為 $2.113 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$ 、鐵離子 (III) 為 $2.6 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$ 、錳離子為 0.0112 g/mL 及鎂離子為 $7.013 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$ ；檢測菌種實驗中發現陰性菌 *E.coli* 及 *Salmonella* 並不會與 AuNPs 反應，在陽性菌中，只有 *S.aureus* 會與 AuNPs 反應，偵測極限為 $2.7 \times 10^5 \text{ CFU/mL}$ ，而 *B.cereus* 由裸視無法判斷，但有沉澱產生，*S.sobrinus* 並不會與 AuNPs 反應。

為了使金奈米粒子對致病菌有更高的親和性，因此加入兩種胜肽 RFPRGGDD (RD) 及 GLFPRGGDD (GD) 作為修飾金奈米粒子的官能基，使 AuNPs 檢測更為靈敏。我們在修飾方法中分別製備兩種不同比例 (1:10 = 胜肽：金奈米粒子及 1:20 = 胜肽：金奈米粒子) 的感測器。在 1:10 比例 RD-AuNPs 檢測中，陰性菌 (*E.coli* 及 *Salmonella*) 及陽性菌 (*S.aureus*、*B.cereus*、*S.sobrinus*) 由裸視無法明確判斷；在 GD-AuNPs 檢測中，陰性菌 *E.coli*、*Salmonella* 與陽性菌 *S.sobrinus* 不會反應，*B.cereus* 偵測極限為 $6.75 \times 10^4 \text{ CFU/mL}$ ，*S.aureus* 偵測極限為 $6.75 \times 10^4 \text{ CFU/mL}$ 。在 1:20 比例 RD-AuNPs 檢測中，陰性菌 *E.coli* 並不會反應，*Salmonella* 偵測極限為 $2.7 \times 10^5 \text{ CFU/mL}$ ，陽性菌 *B.cereus*、*S.sobrinus* 由裸視無法判斷，*S.aureus* 偵測極限為 $6.75 \times 10^4 \text{ CFU/mL}$ ；在 GD-AuNPs 中，陰性菌 *E.coli* 並不會反應，*Salmonella* 偵測極限為 $6.75 \times 10^4 \text{ CFU/mL}$ ，陽性菌 *B.cereus*、*S.sobrinus* 由裸視無法判斷，*S.aureus* 偵測極限為 $1.35 \times 10^5 \text{ CFU/mL}$ 。

實驗結果顯示，以 *S.aureus* 為例，與 AuNPs 修飾前相比，由胜肽修飾過後的 AuNPs 可檢測到較低的偵測極限。

關鍵字: AuNPs、BSA、金屬離子、革蘭氏陰性菌、革蘭氏陽性菌、偵測極限、胜肽