

# کاربرد حسگرهای زیستی پلاسمونیک برای تشخیص انواع ویروس‌ها با تأکید بر ویروس COVID-19

\*سعیده زاغیان  
\*\*سهامه محبی  
\*\*\*زهرا امینی بیات  
\*\*\*\*ندا موسوی-نیری

## چکیده

از آغاز هزاره جدید، تکثیر و انتقال ویروس‌ها به تهدیدی برای امنیت زیستی در سراسر جهان تبدیل شده است که نمونه آن، سندرم حاد تنفسی حاد (SARS) در سال ۲۰۰۲، آنفلوآنزای خوکی همه‌گیر در سال ۲۰۰۹، شیوع ابولا در آفریقای غربی در سال ۲۰۱۴ و آخرین همه‌گیری یا همان COVID-19 است. همه‌گیری بیماری، تهدیدی برای جان جمعیت تمام کره زمین است و تشخیص بموقع عفونت ویروسی و کنترل بیماری همیشه حیاتی بوده است. در این شرایط، تکنیک‌های تشخیص بسیار حساس و انتخابی دارای فوریت فزاینده‌ای هستند. تجربیات دانشمندان نشان داده که تشخیص ویروس بر اساس پدیده‌های مختلف پلاسمونیک، از جمله تشدید رزونانس پلاسمون سطحی (SPR)، SPR موضعی یا LSPR، پراکندگی رامان سطح افزایش یافته یا SERS و طیف سنجی جذب مادون قرمز سطح یا SERIA افزایش می‌یابد. نانوزیست-حسگرها یک ابزار امیدوارکننده جدید برای تشخیص ویروس‌اند. بررسی حاضر بخشی از اطلاعات موجود در زمینه

---

\* گروه نانوزیست فناوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

\*\* نویسنده مسئول، استادیار، گروه زیست فناوری، دانشکده علوم پایه، مؤسسه آموزش عالی آل

E-mail: s.mohebbi@aletaha.ac.ir

طه، تهران، ایران.

\*\*\* استادیار، گروه زیست فناوری پزشکی و صنایع دارویی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی

ایران، تهران، ایران.

\*\*\*\* استادیار، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده علوم نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد

اسلامی، تهران، ایران.

---

شناسایی ویروس مبتنی بر خاصیت پلاسمونیک را پوشش می‌دهد. این داده‌ها به مخاطبان در پیش برد تحقیق و توسعه نسل جدید حسگرهای زیستی برای تشخیص ویروس شامل تشخیص ساختار هدف ویروس‌ها مانند اسیدهای نوکلئیک یا پروتئین‌ها کمک می‌کند.

**واژگان کلیدی:** نانو زیست‌حسگر، شناسایی ویروس، حسگرهای پلاسمونی، کرونا ویروس، تشدید پلاسمون سطحی.

## مقدمه

بشر همواره با افزایش خطرات ناشی از ظهور و بازگشت بیماری‌های عفونی ویروسی مانند ویروس آنفلوانزا، ویروس دنگی (DENV)، ویروس نقص ایمنی انسانی، آنفلوانزای خوکی، ویروس ابولا، ویروس سندرم حاد تنفسی حاد و آخرین، اما نه پایانی، به نام کرونا ویروس مواجه بوده است [۱،۲]. این ویروس‌ها به سرعت در حال شیوع‌اند و از این رو تهدیدی برای سلامتی انسان به شمار می‌روند که با تأثیرات اقتصادی و اجتماعی قابل توجه جهانی همراه‌اند. این ویروس‌ها، پروتئین‌های ویژه‌ای برای اتصال به سلول میزبان دارند. آنها از طریق اندام‌های ما وارد بدن شده، به دنبال آن یک فرایند بیماری‌زایی را ایجاد می‌کنند؛ سیستم ایمنی بدن را تضعیف و چندین علامت اساسی مانند سرفه، سرماخوردگی و تب را ایجاد می‌کنند که منجر به التهاب ریه و گاهی اوقات نارسایی عضو و حتی مرگ می‌شود؛ برای مثال کوید ۱۹ به راحتی به سلول‌های ریه متصل می‌شود و باعث ذات‌الریه و نفس‌تنگی می‌شود. طبق داده‌های به‌دست‌آمده از منابع مختلف، طی قرن گذشته همه‌گیری‌های ویروسی منجر به مرگ میلیون‌ها نفر شده است. در حال حاضر، جهان با نوع جدیدی از سارس-کوید ۲ مبارزه می‌کند. سازمان بهداشت جهانی این شیوع را در ۳۰ ژانویه ۲۰۲۰ به عنوان یک اورژانس بهداشت عمومی اعلام کرد و بیماری را COVID-19 نامید [۳]. تا دوم نوامبر سال ۲۰۲۰، ۴۶٫۸ میلیون نفر توسط COVID-19 و شمارش آلوده شده‌اند که تقریباً ۰٫۴ میلیون نفر در روز افزایش می‌یابد. برای به حداقل رساندن آسیب‌های ناشی از این همه‌گیری و افزایش آمادگی برای ظهور مجدد کوید ۱۹ در آینده و سایر موارد همه‌گیر، سامانه‌های تشخیص سریع و بموقع به سرعت مورد نیاز است. روش‌های مرسوم تشخیص ویروس، معمولاً به یک روش خاص مانند تعیین توالی ژن، کشت سلول، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)، جداسازی ویروس، آزمایش هم‌آگلوتیناسیون، روش الایزا، ایمونوپراکسیداز و غیره نیاز دارند [۴،۵،۶]. به طور کلی این تکنیک‌ها گران بوده و شامل ابزارهای پیچیده‌ای‌اند که نیاز به کار متخصص دارند و نیز دارای زمان پاسخ-

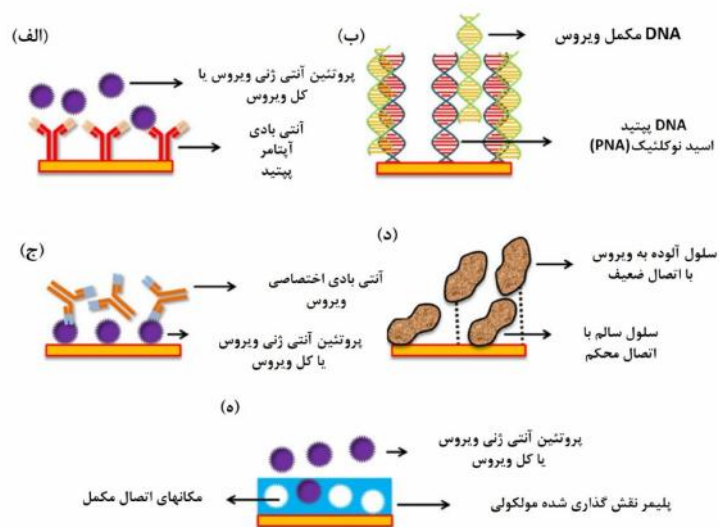
دهی بالا و غیره‌اند. علاوه بر این پروتکل‌های توسعه‌یافته آنها معمولاً به انواع ویروس‌ها محدود می‌شود. در اینجا زیست‌حسگرهای مبتنی بر پلاسمونیک ابزاری جایگزین ارائه می‌دهد که قبلاً به عنوان یک روش جدید بسیار حساس و امیدوارکننده برای تشخیص سریع ویروس‌ها، توجه جامعه علمی را به خود جلب کرده است. این تکنیک همچنین با مزایای عملکرد آسان، حداقل پیش‌نمونه و ابزار دقیق ساده و غیر گران‌قیمت همراه است. مقاله حاضر نمایانگر بررسی بخشی از حسگرهای مبتنی بر پلاسمونیک برای تشخیص ویروس است. در بخش اول، انواع مختلفی از اهداف ویروسی و عناصر شناسایی مربوطه ارائه می‌شود و اصول اولیه تکنیک‌های پلاسمونیک مانند تشدید رزونانس پلاسمون سطحی (SPR)، تشدید پلاسمون سطحی موضعی (LSPR)، پراکندگی رامان سطح افزایش‌یافته (SERS)، فلورسانس سطح افزایش‌یافته (SEF) و طیف‌سنجی جذب مادون قرمز سطح افزایش‌یافته (SEIRA) ارائه می‌شود که به طور خلاصه بحث می‌شوند. سپس داده‌های جامعی در مورد استفاده از این تکنیک‌ها در جهت توسعه روش‌های تشخیص ویروس، همراه با بحث در مورد چند مطالعه به‌ویژه موارد مربوط به COVID-19 ارائه شده است.

### (۱) اهداف ویروسی و عناصر شناسایی

یک حسگر زیستی عمومی دارای سه عنصر اصلی است: هدف، شناساگر و عنصر مبدل. هدف، مولکول آنالیت است که وقتی توسط عنصر شناساگر از طریق برخی فعل و انفعالات خاص جذب می‌شود، مورد شناسایی قرار می‌گیرد. پس از اتصال با مولکول هدف، عنصر تشخیص حسگر در یکی از خصوصیات فیزیکی یا شیمیایی خود مانند رسانایی، ضریب شکست (RI)، مقدار pH و غیره تغییر می‌کند. این تغییر با تبدیل به سیگنال قابل خواندن ترجمه می‌شود [۷]. مبدل با در نظر گرفتن انواع مختلف عناصر شناسایی و اهداف ویروس طراحی می‌شود. حسگرهای زیستی ویروسی را می‌توان به پنج دسته مختلف تقسیم کرد: حسگرهای زیستی مبتنی بر پاسخ‌های ایمنی، DNA، آنتی‌ژن، سلول و مولکول [۱]. حسگرهای ایمنی معمولاً بر اساس فعل و انفعال بین آنتی‌ژن ویروسی و آنتی‌بادی‌های مربوطه‌اند. در واکنش به مولکول ویروس یا ارگانسیم

ویروس مهمان، سیستم ایمنی بدن انسان/ حیوان میزبان آنتی‌بادی تولید می‌کند [۸]. این آنتی‌بادی‌ها می‌توانند در برابر یک پروتئین ویروسی، آنتی‌بادی دیگر یا حتی یک ویروس کامل تولید شده و با میل و ویژگی بالا متصل شوند؛ از این رو آنتی‌بادی‌های تولیدشده به طور گسترده‌ای به عنوان گیرنده‌های زیستی برای تشخیص آنتی‌ژن‌های ویروسی انتخابی استفاده می‌شوند. در حسگرهای ایمنی از آپتامرها نیز به عنوان عنصر تشخیص استفاده می‌شود [۹]. این اولیگونوکلوئوتیدهای تک‌رشته‌ای (ssDNA) یا (ssRNA) یا مولکول‌های پپتید، به آنتی‌ژن‌های ویروسی هدف با انتخاب و میل زیاد متصل می‌شوند [۱۰]. تشخیص مبتنی بر آپتامرهای DNA، به جهت‌گیری ترجیحی آنها با توجه به ویروس هدف متکی است که با تفاوت‌های ساختاری ظریف همراه می‌شود. در مقابل، آپتامرهای پپتیدی با تقلید از آنتی‌بادی‌ها کار می‌کنند و از طریق سایت‌های تشخیص انتخابی روی سطح حسگر مهندسی می‌شوند [۱۱]. تشخیص ویروس بر اساس DNA به عنوان عنصر شناسایی با تثبیت ssDNA بر سطح حسگر با واکنش-پذیری حفظ شده، پایداری و قابلیت دسترسی به DNA ویروس هدف حاصل می‌شود و به هیبریداسیون اسیدنوکلئیک بستگی دارد [۱۲]. آنتی‌ژن‌های سطحی -مانند پروتئین‌ها و پاکت‌های نوکلئوکسپید- یا ذرات کامل ویروس به عنوان گیرنده‌های سطحی برای تشخیص آنتی‌بادی‌های خاص ویروس، از سرم انسانی آلوده، در زیست‌حسگرهای ویروسی مبتنی بر آنتی‌ژن به دست می‌آیند [۱۳]. دقت و کاربرد این حسگرها با غلظت آنتی‌بادی تولیدشده طی مراحل مختلف عفونت محدود می‌شود. زیست‌حسگر مبتنی بر سلول به طور گسترده‌ای به عنوان یک جایگزین بالقوه برای آزمایش روی حیوانات، به منظور بررسی بیماری‌های ویروسی استفاده می‌شود. این حسگرها با عامل دار کردن سلول‌ها قبل و بعد از آلوده شدن روی سطح حسگر ساخته می‌شوند و اجازه می‌دهند تجزیه و تحلیل دقیق عفونت ویروسی، از جمله اثرات سیتوپاتیک مورد مطالعه قرار گیرد [۱۴]. این تأثیرها شامل اطلاعات جمع‌آوری شده از اتصال یا جدا شدن ویروس، تغییرات مورفولوژیکی، تخریب غشای ویروسی و در نهایت

مرگ سلولی است. برای حسگرهای زیستی مبتنی بر پلیمر چاپی مولکولی (MIP= Molecular Imprinted Polymer)، مکان‌های شناسایی ساخته شده، حفره‌های مکمل در یک ماتریس پلیمری‌اند که مجموعه آنتی‌ژن-آنتی‌بادی‌های ویروسی هدف، ساخته شده و روی سطح حسگر رسوب می‌کنند. این روش میل ترکیبی و انتخاب قابل مقایسه را با توجه به عناصر بیولوژیکی، همراه با افزایش پایداری در محیط‌های سخت، قابلیت استفاده مجدد و مقرون‌به‌صرفه بودن نشان می‌دهد. یک تصویر شماتیک از حسگرهای زیستی مورد بحث در بالا در شکل ۱ ارائه شده است.



شکل ۱. انواع مختلف حسگرهای زیستی مبتنی بر عامل و اهداف ویروس. یک حسگر ایمنی-یا زیست‌حسگر مبتنی بر آنتی‌بادی-، زیست‌حسگر مبتنی بر DNA، زیست‌حسگر مبتنی بر آنتی‌ژن، حسگر زیستی مبتنی بر سلول و حسگرهای زیستی مبتنی بر چاپ مولکولی.

## ۲) حسگرهای پلاسمونی برای تشخیص ویروس

روش‌های مبدل سنجش متداول، مانند الکتروشیمیایی (پتانسیومتری آمپومتريک، ایمپدی متریک و کالری‌متری) و کروماتوگرافی یا حساسیت جرمی بسیار گسترش

یافته‌اند. این تکنیک‌ها به‌ویژه الکتروشیمیایی، در زمینه‌های بهداشت، غذا، کشاورزی و غیره مورد توجه تحقیقات و صنایع قرار گرفته است. در نتیجه طیف گسترده‌ای از حسگرهای ویروسی معمولی در جامعه علمی ایجاد شده است [۱۵، ۱۶]. حسگرهای پلاسمونیک به مدت ۴۰ سال در دست ساخت بوده و در این مدت هزاران مقاله تحقیقاتی، حق ثبت اختراع و چند ده دستگاه تجاری پدیدار شده است [۱۷]. دلیل این امر آن است که این حسگرها دارای مزایای مختلفی در مقایسه با روش‌های معمولی‌اند؛ از جمله: (۱) منطبق با زمان (Real-Time) برای کشف پویایی اتصال به منظور مشاهده تعاملات زیستی مختلف بین مولکول‌های زیستی؛ (۲) تشخیص بدون برچسب؛ (۳) قابلیت استفاده مجدد زیاد؛ (۴) زمان پاسخ کوتاه؛ (۵) درمان‌های نمونه ساده، همراه با استفاده از حداقل اجزای الکتریکی.

با این حال حسگرهای پلاسمونیک معایبی هم دارند؛ از جمله (۱) اختصاصی بودن سطح اتصال - که می‌توان آن را از طریق تثبیت لایه انتخابی آنالیت روی فیلم پلاسمونیک افزایش داد؛ (۲) محدودیت تحمل جرم؛ (۳) مانع استریک در حین رویداد اتصال؛ (۴) خطر سوء تعبیر اطلاعات در هنگام رویدادهای معمول [۱۸]. این بخش به روش‌های اصلی پلاسمونیکی اختصاص دارد که می‌تواند برای تولید انواع حسگرهای ویروسی مورد استفاده قرار گیرد. این روش‌ها شامل SPR، LSPR، SER، SERS و SEIRA می‌باشد.

### ۳) حسگرهای مبتنی بر SPR

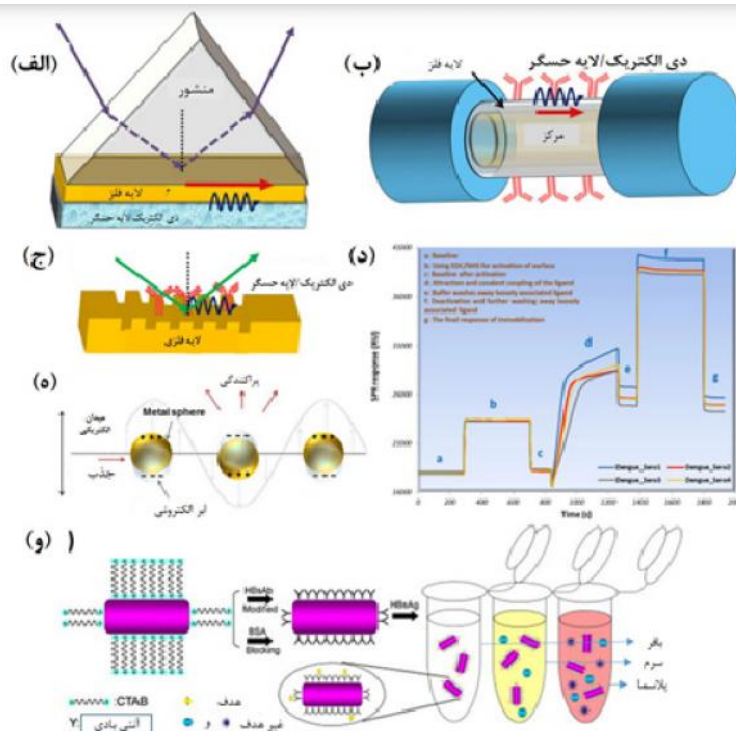
پلاسمون سطحی به نوسانات منسجم الکترون‌های لایه رسانا در سطوح فلزات گفته می‌شود که با استفاده از تابش الکترومغناطیس در سطح میان فلز و دی‌الکتریک به وجود می‌آید. با توجه به حساسیت پلاسمون‌های سطحی به تغییرات ضریب شکست سطح فلز، می‌توان از این پدیده به عنوان ابزاری برای حسگرهای نوری استفاده کرد. پلاریتون پلاسمون سطحی (Surface Plasmon Polariton) یا به طور خلاصه SPR یک تکنیک نوری به طور گسترده در دسترس است که برای مشاهده تغییرات ضریب شکست

(Refractive index) حسگر پس از اتصال مولکول هدف استفاده می‌شود [۱۹]. این تکنیک به تشدید الکترومغناطیسی (Electromagnetic Resonance) نوسانات جمعی الکترون‌های آزاد مرتبط با یک فلز پلاسمونیک (نقره و طلا برای طیف قابل مشاهده) یا سطح نیمه دی‌الکتریک اشاره دارد. این تشدید باعث ایجاد یک میدان الکترومغناطیسی منتشرشونده سطحی در امتداد سطح دی‌الکتریک فلز می‌شود که به طور نمایی در هر دو محیط تحلیل می‌رود. این قسمت نسبت به تغییر RI لایه دی‌الکتریک بسیار حساس است؛ به این معنی که می‌تواند به عنوان یک لایه حسگر برای تحقق حسگرهای مبتنی بر SPR استفاده شود [۲۰، ۲۱]. تحریک SPR برای تأمین حرکت فوتونی لازم در طول سطح، به یک اتصال جفت‌شده نیاز دارد. این را می‌توان با استفاده از منشور با شاخص بالا (High-index prism)، گریتینگ (Grating)، هدایت موج یا فیبر نوری به دست آورد. SPR به طور متداول از طریق اتصال منشوری (روشی معروف به پیکربندی کرشمن (Kretschmann configuration) [۲۲] به دست می‌آید؛ جایی که نور از طریق یک منشور با شاخص بالا روی یک سطح از یک فیلم طلا عبور می‌کند و انعکاس داخلی کامل را در سطح مشترک منشور و فلز تسهیل می‌کند.

شکل ۲ (الف-ج) به ترتیب چندین پیکربندی اصلی ایجادشده برای دستیابی به SPR را با توجه به کاربردهای مورد نیاز ارائه داده است. توسعه حسگرهای مبتنی بر SPR توسط کرشمن و ریبر در سال ۱۹۶۸ آغاز شد. آنها پیکربندی متعارف مبتنی بر منشور را معرفی کردند [۲۲]. از آن زمان، تحقیقات مبتنی بر SPR با توسعه چندین پیکربندی و ترکیب مواد برای افزایش عملکرد این حسگرها نسبت به برنامه‌های مراقبت از مرکز (POC= Kretschmann configuration)، رشد چشمگیری داشته است. امروزه شرکت‌های زیادی مانند Biacore، PhotonicSys، Plasmatrix و دیگران دستگاه‌هایی را برای ارزیابی عملکرد حسگرهای مبتنی بر تراشه برای دستگاه‌های POC تولید می‌کنند. برای تولید حسگرهای مبتنی بر تراشه، لایه حسگر روی یک سوبسترای شیشه‌ای با پوشش فلز نازک (~ ۵۰ نانومتر) آماده می‌شود و آنالیت در یک کانال میکروسیال در مجاورت لایه حسگر جریان می‌یابد تا بتواند آن را تشخیص دهد. همان

طور که گفته شد، این نوع حسگرهای مبتنی بر تراشه مزایای مختلفی دارند؛ مانند (۱) تشخیص بدون برچسب که با حذف عامل دارکردن چندین آنتی‌بادی مانند ELISA، دستگاه سنجش را ساده می‌کند؛ (۲) اندازه‌گیری دینامیکی سینتیک اتصال-عدم اتصال، برای مشاهده مکانیسم واکنش رخ داده روی سطح حسگر؛ (۳) حساسیت بالا. تراشه‌های استاندارد SPR همچنین معایب متعددی دارند که شامل محدودیت در نور پلاریزه مغناطیسی عرضی، انتخاب‌پذیری کم و عمق نفوذ کم است. اگرچه عمق نفوذ کوچک (۲۰۰-۳۰۰ نانومتر) مزیتی است که امکان سنجش خاصیت‌های زیستی یا مولکول‌ها در مجاورت سطح پلاسمونیک نانومقیاس را فراهم می‌کند، اما در صورت بزرگ‌بودن نمونه مورد مطالعه، مانند باکتری‌ها یا سلول‌ها، عمق نفوذ بالاتر لازم است. با این حال با اصلاح تراشه، مانند استفاده از تراشه‌های دوربرد SPR، این مانع برطرف می‌شود [۲۱].

جهانشاهی و همکاران یک روش تشخیص سریع آنتی‌بادی ایمونوگلوبولین M (IgM) با استفاده از سروتیپ DENV به عنوان یک گیرنده روی تراشه طلا پیشنهاد کردند [۲۳]. پروب شناساگر، کاربرد در نمونه‌های سرم انسانی همراه با انتخاب ۱۰۰ و زمان پاسخ ده دقیقه را نشان داد. پاسخ حسگر ساخته‌شده در هر مرحله تثبیت در شکل ۲ d ارائه شده است. از SPR همچنین برای تعیین کمیت و ارزیابی سینتیک ویروس کرونا (SARS-CoV) که در سال‌های ۲۰۰۲-۲۰۰۳ ظهور کرد، استفاده شد. در یک مطالعه، سینتیک اتصال SARS-CoV با RNA طی فسفوریلاسیون نوکلئوپروتئین SARS-CoV (پروتئین N) ارزیابی شد [۲۵]. این مطالعه نشان داد پروتئین N فسفریله و غیر فسفریله میل اتصال مشابهی به RNA ویروسی را نشان داد. با این حال در مقایسه با RNA غیر ویروسی، میل اتصال بالاتر پروتئین N فسفریله مشاهده شد که فسفوریلاسیون پروتئین N را برای تشخیص RNA ویروسی تحریک می‌کند. مشاهده شد که عنصر اصلی ویروس نه‌تنها به عنوان یک محل اتصال برای پروتئین N عمل می‌کند، بلکه باعث اتصال با میل بالا برای مناطق دیگر می‌شود.



شکل ۲- پیکربندی‌های مختلف متداول برای دستیابی به SPR.

(الف) مبتنی بر منشور؛ (ب) بر اساس فیبر نوری؛ (ج) بر اساس گریتنینگ؛ (د) پاسخ SPR در حین ساخت حسگر با استفاده از تثبیت چهار سروتپ آنتی ژن دانگ در هر مرحله که برای تشخیص آنتی بادی IgM DENV استفاده می‌شود [۲۳]: (ه) LSPR رفتار نانوسفر فلزی در یک میدان الکترومغناطیس خارجی [۱۹]؛ (و) نانومیله‌ای طلای فعال شده با آنتی‌بادی برای مکانیسم تشخیص آنتی ژن HBs و کاربرد آن در ماتریس-های مختلف [۲۵].

در مطالعه دیگری، یک حسگر مبتنی بر SPR برای تشخیص ساده و آسان ویروس کرونا با استفاده از پروتئین تولیدشده از طریق همجوشی پلی‌پپتیدهای متصل به طلا (GBP) ساخته شد [۲۶]. پروتئین‌ها روی لایه طلا تثبیت شده و به عنوان لیگاند برای آنتی‌ژن سطح SARS-CoV استفاده می‌شود. حسگر پیشنهادی در غلظت بهینه شده پروتئین همجوشی ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بهترین عملکرد را دارد. حد تشخیص و

زمان پاسخگویی حسگر به ترتیب ۲۰۰ نانوگرم در میلی لیتر و ۱۰ دقیقه گزارش شد.

#### ۴) حسگرهای مبتنی بر LSPR

LSPR یکی دیگر از کاندیداهای بالقوه تحقق بیوحسگرهای پلاسمونی با حساسیت بالاست که یک دسته از پدیده‌های SPR است؛ جایی که میدان الکترومغناطیس تشدیدشده به نانو ساختار فلزی محدود شده و نسبت به تغییر RI محیط اطراف آن فقط در عرض چند دهم نانومتر حساس است. در مورد نانوذرات کلوئیدی با جهت‌گیری تصادفی، اثرات پراکندگی و جذب غالب‌اند. محققان از نانو حسگرهای مبتنی بر LSPR برای شناسایی مواد شیمیایی و زیستی استفاده می‌کنند. در بیشتر این موارد، باند پلاسمونی به دلیل اتصال ویژه مولکول‌های مورد نظر به سطح، تغییر مکان می‌دهد که این تغییر باند به عنوان سیگنالی برای شناسایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در شرایط رزونانس، ارتفاع پیک LSPR و طول موج متناظر، به چندین پارامتر حساس‌اند: شکل، اندازه و مواد نانو ساختار پلاسمونیک و همچنین محیط اطراف آن که می‌تواند به عنوان محیط سنجش استفاده شود [۲۷]. ابعاد نانوذره، چندین ویژگی پلاسمونیک مانند طول موج رزونانس، نسبت پراکندگی به جذب و مقطع نابودی را تعیین می‌کند. این مطالعه نشان‌دهنده افزایش سریع خاموشی و سهم پراکندگی مربوطه با توجه به افزایش اندازه ساختار نانو است؛ اما اینها به نسبت ابعادی ساختارهای نانو وابسته نیستند. در مقایسه با نانوکره‌های طلا و نانو پوسته‌ها، نانومیله‌ها جذب و پراکندگی بیشتری نشان می‌دهند. نانومیله‌های با نسبت ابعاد بالا که دارای شعاع کوچک‌اند، بهترین جذب را نشان می‌دهند؛ در حالی که نانومیله‌های با نسبت ابعاد بالا با شعاع بزرگ، بالاترین کنتراست پراکندگی را نشان می‌دهند و می‌توانند برای کاربردهای تصویربرداری استفاده شوند. این حسگرها به طور کلی به وسیله ساخت نانو ساختارهای فلزی مانند نانوکره‌ها، نانومیله‌ها، نانوپوسته‌ها، نانوسیم‌ها، نانومنشورها و غیره و یک لایه پوششی از فیلم حسگر ساخته می‌شوند. تحولات تکنیک‌های نانولیتوگرافی ساخت این نانو ساختارها با قابلیت کنترل بسیار زیاد روی لایه‌های زیرین را امکان‌پذیر کرده است تا نه تنها با استفاده از ذرات

کلوئیدی، بلکه با استفاده از زیرلایه‌های مبتنی بر تراشه (Chip-based substrates) که مینیاتوری شده‌اند، از حسگرهای مبتنی بر LSPR با حساسیت و تکرارپذیری بالا استفاده کند و بتوانند با سایر اجزای حسگر مانند میکروسیالات و غیره ادغام شوند [۲۸]. پیشرفت در تکنیک‌های نانولیتوگرافی، فناوری نانو را قادر می‌سازد لایه‌های پلاسمونی مبتنی بر آرایه نانو را با سطح بزرگ‌تر و بازده بسیار کنترل‌شده توسعه دهد. این امر منجر به چندین عامل مفید با ترکیبی از سوبستراهای مسطح و کلوئیدی، از جمله تکرارپذیری زیاد، «نقاط داغ» میدان الکتریکی متراکم زیاد (حدود یک میلیارد یا بیشتر در هر سانتی‌متر مربع) با باندهای SPR قابل تنظیم و توزیع میدان مربوطه می‌شود که با توجه به رویکرد انبوه متعارف، سهولت کوچک‌سازی، کاربرد برای ادغام با سایر اجزا -مانند میکروسیالات و غیره- منجر به افزایش حساسیت خواهد شد (Ibid). از مزایای LSPR در مقایسه با SPR می‌توان به این موارد اشاره کرد: نسبت ابعاد بالا که سبب در دسترس بودن سطح بیشتری برای میان‌کنش یا تثبیت عناصر سنجش می‌شود؛ یک پروب کوچک برای دستیابی به دستگاه‌های جمع و جور؛ قابلیت استفاده و سازگاری گسترده با چندین پدیده، مانند فلورسانس، طیف سنجی Raman و IR و موارد دیگر. از طرف دیگر از نظر حساسیت RI، حساسیت LSPR نسبت به SPR معمولی کمتر است [۲۹]، اما افزایش نسبت ابعادی، باعث اسکان آسان‌تر مولکول‌های زیستی در سطح سنجش روی نانوذره فلزی و در نتیجه حساسیت بالای بیومولکول می‌شود [۳۰]. با این حال چند تحقیق وجود دارد که SPR با LSPR همراه شده است تا بهترین عملکرد حسگر را به دست آورد. Wang به منظور تحقق LSPR برای یک حسگر تشخیص ویروس HBV، نانومیله‌های طلا و آنتی‌ژن سطح هپاتیت B (HBs) را به عنوان مولکول هدف مورد استفاده قرار داد. آنتی‌بادی‌های ضد HBs مونوکلونال بر سطح نانومیله‌های طلا از طریق یک فرایند جذب فیزیکی تثبیت شدند. عملکرد حسگر برای نمونه‌های بافر تریس، سرم خون و پلاسما خون با موفقیت نشان داده شد. شکل شماتیک از تثبیت آنتی‌بادی روی نانومیله‌های طلا و کاربرد آن برای به‌دام‌انداختن HBV در شکل ۲- (و) نشان داده شده است.

برای تشخیص سریع نورویروس انسان (NoV)، یک حسگر رنگ‌سنجی مبتنی بر نانوذرات طلا با استفاده از آیتامر بسیار خاص و فعالیت آنزیمی افزایش‌یافته توسط ویراسانگ و همکاران گزارش شده است [۳۱]. قابلیت اطمینان پروب حسگر برای تشخیص NoV در انواع مختلف ماتریس‌های پیچیده مانند سرم انسانی و غیره با موفقیت نشان داده شد؛ همچنین یک رویکرد جدید برای تشخیص مؤثر ویروس ابولا با ترکیب LSPR و لومینسانس منجر به انتقال انرژی تشدید لومینسانس توسط تسانگ و همکاران گزارش شده است [۳۲]. درباره بیماری همه‌گیر COVID-19، لی و همکاران تعیین سریع و آسان آنتی‌بادی‌های IgM و IgG مربوط به ویروس SARS-CoV-2 در سرم خون را گزارش کردند [۳]. آنتی‌بادی هدف IgG/ IgM در مرحله اول با یک آنتی-ژن نوترکیب پروتئین S متصل به طلا از آنتی‌ژن SARS-CoV متصل می‌شود. کمپلکس آنتی‌بادی- آنتی‌ژن مورد سنجش که با آنتی‌بادی ضد انسانی که به غشای نیترو سلولز متصل شده بود، پیوند خورده بود، به دلیل پدیده LSPR، منجر به تغییر در رنگ کمپلکس متصل و تأیید ویروس SARS-CoV-2 با ویژگی بالا می‌شود. نتایج به‌دست‌آمده قابلیت تشخیص قابل توجهی را برای نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از سرم خون، پلاسما و غیره نشان داد. روش دیگر برای تشخیص بالینی COVID-19 با استفاده از ادغام LSPR و اثر فوتوترمال پلاسمونی گزارش شد [۳۳]. در این روش، گیرنده‌های مکمل DNA به سمت SARS-CoV-2 روی نانوجزیره‌های دوبعدی طلا (Au NI= Nanoislands 2D-Au) برای تشخیص حساس توالی‌های انتخاب‌شده از ویروس از طریق ترکیب اسید نوکلئیکی تثبیت شدند. سپس عملکرد حسگر از طریق گرمای ترموپلاسمونی تولیدشده در همان تراشه نانوجزیره‌های دوبعدی طلا هنگامی که در فرکانس تشدید پلاسمونی روشن می‌شود، بهبود یافت. این حسگر، تشخیص دقیق ویروس را با حد تشخیص پایین‌تر ۰,۲۲ پیکومولار به نمایش می‌گذارد. در جست‌وجوی روش‌های تشخیص SARS-CoV-2، یک روش انتخابی «چشم غیر مسلح» با استفاده از توالی‌های RNA آن به عنوان هدف، بدون استفاده از تکنیک‌های

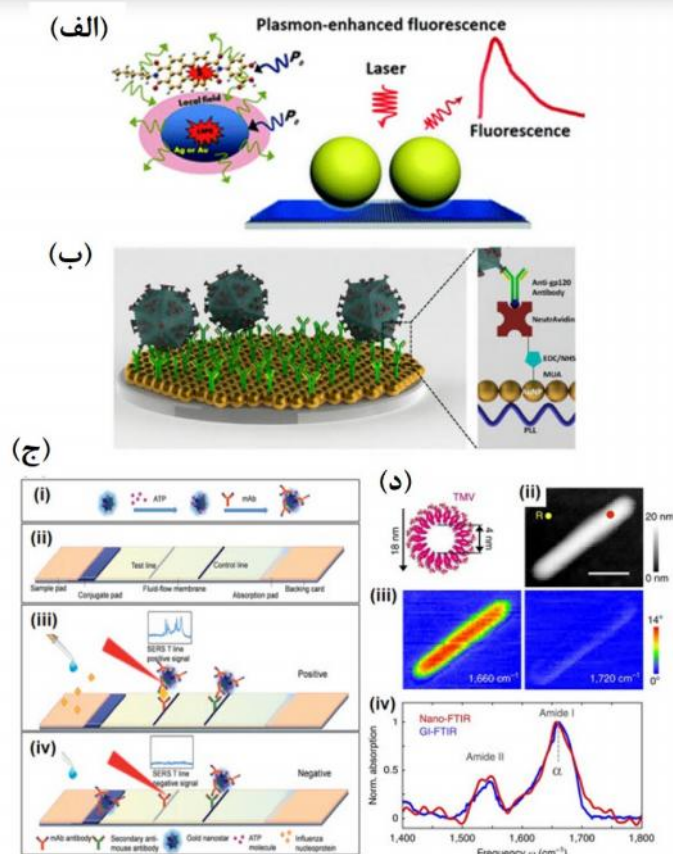
ابزار پیچیده ایجاد شد [۳۴]. تشخیص رنگ‌سنجی این توالی‌های RNA در جایی انجام شد که نانوذرات طلای کلئیدی با الیگونوکلوئوتیدهای آنتی‌سنس تیوله برای ژن N (فسفوپروتئین نوکلئوکپسید) SARS-CoV-2 پوشانده شد. مطالعه پیشنهادی تشخیص سریع بیماران مثبت COVID را طی ۱۰ دقیقه با استفاده از نمونه‌های جدا شده RNA با انتخاب بالا و حد تشخیص ۰,۱۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر ارائه داد. این مطالعه در مقایسه با سایر روش‌های معمول، زمان پاسخ‌گویی بسیار کمی دارد.

### ۵) حسگرهای مبتنی بر SERS

طیف‌سنجی رامان تقویت‌یافته سطحی (Surface Enhanced Raman Spectroscopy) با نام اختصاری SERS، تکنیکی است که در آن، طیف رامان برای شناسایی مولکول‌هایی که بر سطح فلزات جذب‌سطحی شده‌اند، به کار می‌رود. مزیت عمده این روش، شدت افزایش‌یافته پیک‌های رامان است که از درجه  $10^4$  تا  $10^{14}$  می‌تواند تقویت شود و به همین علت حتی برای شناسایی یک مولکول منفرد و تک هم به کار می‌رود. پراکندگی رامان با جذب سطحی آنالیت یا مولکول هدف روی یک سوبسترای فلزی به طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد. این اثر در فلزات نقره و طلا و مس قابل مشاهده است؛ اما در فلزات دیگر ناچیز است. دو مکانیسم عمده برای توجیه این اثر معرفی شده‌اند: اثر انتقال بار (CT= Charge transfer) و اثر میدان الکترومغناطیس (EME= Electromagnetic effect). به اثر انتقال بار اثر شیمیایی (Chemical effect) نیز گفته می‌شود.

در هر دو مکانیسم، وجود یک سطح زیر و ناهموار برای افزایش و ارتقای سیگنال ضروری است. در مکانیسم اثر میدان مغناطیسی، تشدید پلاسمون سطحی را عامل ارتقا و افزایش سیگنال می‌دانند. پلاسمون نوسانات جمعی و آزاد الکترون‌های لایه رسانش فلز از یک ذره به ذره دیگر است. نوسانات الکترون‌ها مشابه نوسان‌های ذرات محیط پلاسماست؛ به همین علت این اثر را پلاسمون نام‌گذاری کرده‌اند. وقتی نور یا الکترون پراثرژی به سطح فلز بتابد، نوسانات جذب قوی در ناحیه مرئی نشان می‌دهند که به آن جذب پلاسمون سطح گفته می‌شود. در چند دهه گذشته، در میان چندین مبدل

زیست‌سنجی، SERS خود را به عنوان یک ابزار بسیار انتخابی و روش تحلیلی غالب در زمینه کاربردهای تشخیصی ثابت کرده است [۳۵] که دارای طیف گسترده‌ای از مزایاست: (۱) امضای اثر انگشت منحصر به فرد از آنالیت که باعث ایجاد قدرت انتخاب بالا می‌شود؛ (۲) روش آماده‌سازی آسان نمونه؛ (۳) عدم وجود سیگنال از محیط آنالیت که معمولاً مبتنی بر آب است؛ (۴) تشخیص تک-مولکولی؛ (۵) پتانسیل حسگری چندگانه با یک پرتوی لیزر منفرد؛ (۶) توان بالا؛ (۷) کاربرد POC با استفاده از کاوشگرهای قابل حمل رامان قابل حمل در بازار [۲۸]. از فناوری SERS برای افزایش سیگنال طبیعی رامان ضعیف با استفاده از خصوصیات نوری و شیمیایی نانومواد پلاسمونیک مجاور استفاده می‌شود [۳،۳۶]. نانوساختارهای فلزی پلاسمونی دارای میدان الکترومغناطیس متمرکز در نتیجه LSPR هستند و با افزایش سطح مقطع پراکندگی رامان در صورت نزدیک‌بودن نانوذرات پلاسمونیک به ماده فعال رامان، در سیگنال رامان تأثیر می‌گذارند. این افزایش، به دلیل ترکیبی از دو نوع فرایند است - تقویت الکترومغناطیس و تقویت شیمیایی - اگرچه اولی در مقایسه با دومی سهم غالب دارد. اولی معمولاً سهم عمده بین  $10^4$  و  $10^8$  را دارد؛ در حالی که دیگری سهم  $10$  تا  $100$  را برای پیشرفت رامان دارد [۳۶، ۳۷، ۳۸]. از آنجا که میدان الکترومغناطیس محلی شده به دلیل LSPR به طور قابل توجهی بالاتر از نور تصادفی است، منجر به تشخیص سیگنال SERS از سطح مقطع بسیار کوچک ( $10-30$  سانتی متر مربع در مولکول) می‌شود. بهینه‌سازی طراحی ساختار نانوسیمای پلاسمونیک می‌تواند حسگرهای SERS با عملکرد بالا ایجاد کند؛ زیرا تقویت میدان الکترومغناطیس، حساسیت، قابلیت تولید مجدد حسگرهای و کاربردهای صنعتی آن را تعیین می‌کند.



شکل ۳- (الف) حسگر پلاسمونیک افزایش یافته سطح.

طرح کلی از اصل فلورسانس افزایش سطح [۳۹]. (ب) سکوی تشخیص HIV بر روی آرایه نانوذره طلا [۴۰] (ج) تصویری از یک سیستم SERS مبتنی بر جریان جانبی ارائه شده است. (i) ساخت برجسب SERS - ATP - mAb ، (ii) ، دستگاه سنجش پیشنهاد شده و اصل کار سنسور (III) با و (IV) بدون نوکلئوپروتئین آنفلوانزا A [۳۷]. (د) نمونه‌ای از یک سکوی SEIRA برای نقشه‌برداری ویروس موزاییک تنباکو (TMV): (i) ساختار پروتئین TMV، (ii) تصویر توپوگرافی TMV روی بستر سیلیکون، IR، (iii) نقشه‌برداری فاز نزدیک میدان IR در دو فرکانس مختلف (۱۶۶۰ و ۱۷۲۰ بر سانتی‌متر)، (iv) طیف نانو-FTIR - TMV [۴۱].

تشخیص توالی‌های اسیدنوکلئیک DENV با استفاده از تکنیک SERS روی تراشه نانوسیم دوفلزی طبقه‌بندی شد [۴۲]. پروب حسگر با ایجاد ساختاری شبیه موج از نانوکره‌های پلی‌استایرن ساخته شد و به ترتیب پوشش‌های نقره و طلا ساخته شد. سپس ssDNA مکمل تیوله DENV روی طلا تثبیت شد. سیگنال‌های SERS بدون هیچ شست‌وشویی، پس از یک واکنش واحد بر سطح تراشه جمع‌آوری و اندازه‌گیری شدند که استفاده از آن ساده و کم‌هزینه بود. این حسگر قادر بود DENV DNA را با حد تشخیص ۶ آتومول تشخیص دهد. روش سنجش جریان جانبی (LFIA) و SERS در مطالعه‌ای در مورد تشخیص نوکلئوپروتئین آنفلوانزا A بررسی گردید [۳۶]. نانوستاره‌های چند شاخه طلا-ATP (به عنوان گزارشگر رامان) سنتز و متصل شدند تا کمپلکس AuNS - ATP (Au nanostar) تشکیل شود. آنتی‌بادی‌ها پس از آن روی کمپلکس تثبیت شدند. نمونه‌های نوکلئوپروتئین از طریق نوار LFIA جریان یافته و از طریق آنتی‌بادی متصل به هم پیچیده AuNS-ATP متصل می‌شوند که مجدداً برای رسیدن به سنجش، به موقعیت آزمایش که کل مجموعه به آن متصل شده بود، مهاجرت می‌کنند. در موقعیت آزمایش، سیگنال SERS ضبط شد و حد تشخیص ۶,۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود. شکل ۳ (ج) شماتیک پلتفرم حسگر و مکانیسم کار را ارائه می‌دهد.

### ۶) حسگرهای مبتنی بر SEIRA

SEIRA پدیده‌ای است که برای افزایش سیگنال جذب IR ماده هدف استفاده می‌شود. سیگنال IR که معمولاً با استفاده از طیف‌سنج IR تبدیل فوریه (FTIR) اندازه‌گیری می‌شود، از طریق ارتعاشات اتمی ماده به دست می‌آید. بنابراین به عنوان یک نشانگر زیستی انتخابی عمل می‌کند و می‌تواند برای تشخیص‌های مولکولی مورد استفاده قرار گیرد [۴۳]. اما با توجه به اینکه طول موج‌های سیگنال IR بسیار بیشتر از اندازه مولکول‌های هدف است، سیگنال‌های IR از طریق یک مقطع کوچک جمع می‌شوند که سیگنال را ضعیف می‌کند و به معنای حساسیت کمتر است. طیف‌سنجی SEIRA از طریق ترکیبی از طیف‌سنجی IR و رزونانس پلاسمونی موضعی حساسیت

قابل ملاحظه‌ای (چندین مرتبه بزرگ) را افزایش می‌دهد. مشابه SEF و SERS، SEIRA با قراردادن مواد مورد نظر در مجاورت نانومواد پلاسمونی به دست می‌آید. با این حال، به دلیل محدوده طول موج IR، مزایای انتخاب گسترده‌تری از مواد پلاسمونی مانند فلز، نیمه‌هادی‌ها، گرافن و غیره را دارد [۴۴]. تشدیدها در محدوده IR با طراحی ساختارهای نوع نانوانتن مانند نانومپله‌های طلا با طول برابر با تعداد متعدد نصف طول موج مؤثر به دست می‌آیند. با وجود این ساخت این سازه‌ها به دقت بالا و تکنیک‌های پیشرفته ساخت نانو نیاز دارد و این روش را درکنار نیاز به تخصص کمی گران می‌کند. در مقایسه با سایر تکنیک‌های افزایش سطح (برای مثال SERS و SEF)، ضریب افزایش کمتر است (۱۰-۱۰۰۰)، اما سطح مقطع برای جذب IR چندین برابر بیشتر از SERS و SEF است. از معایب SEIRA این است که قله‌های جذب مادون قرمز مولکول‌های آلی زیادند و در طول موج‌های وسیع از ۱٫۵ تا ۱۰ میکرومتر و بیشتر گسترش می‌یابند. در همان زمان، ساختارهای نوع نانوانتن معمولاً به گونه‌ای طراحی می‌شوند که در محدوده باریکی از طول موج‌ها را تقویت کنند. از طرف دیگر در طیف‌سنجی‌های SERS و SEF، دامنه مورد علاقه طول موج حداکثر تا چند ده نانومتر گسترش می‌یابد.

### نتیجه‌گیری

از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که حسگرهای زیستی پلاسمونیک پتانسیل زیادی برای تشخیص ویروس دارند. مزیت‌های کلی شامل نمونه‌برداری سریع، LOD پایین‌تر، دامنه خطی گسترده، حساسیت بالا و انتخاب بالاست. مشخص شده که سنسج خاص مبتنی بر سیستم‌عامل‌های پلاسمونیک مانند SPR، LSPR، SEF، SERS و SEIRA دارای ویژگی‌های متمایزی است که آنها را برای کاربردهای مختلف مناسب می‌کند. هنوز هم استفاده از حسگرهای زیستی پلاسمونیک در دستگاه‌های POC برای تشخیص زودهنگام بیماری‌های ویروسی همچنان نوپا باقی مانده است. برای افزایش سطح آمادگی فناوری این حسگرها تا مرز تجاری‌سازی و کاربردهای واقعی، به تحقیق و توسعه بیشتر نیاز است. حسگرهای مبتنی بر رنگ که بر اساس LSPR پاسخ مثبت یا منفی می‌دهند، از نظر فیزیکی وجود دارند. با این حال حسگرهای کمی که بتوانند

غلظت بسیار کمتری را تشخیص دهند، وارد بازار نشده‌اند. دلیل آن، پروتکل‌های اتصال ویژه‌ای است که باید بیشتر توسعه داده شود تا بتوان مولکول مورد نیاز را از تعداد زیادی در نمونه انتخاب کرد. آنتی‌بادی‌ها، آپتامرها، پپتیدها و MIPها بیشترین وعده را در حل این مسئله می‌دهند و پیشرفت‌های اخیر در مورد برخی نشانه‌های خوب در مسیر درست وجود دارد. در نتیجه پلاسمونیک‌ها نقش مهمی در پیشرفت حسگرهای SARS-CoV-2 برای شناسایی سریع، کارآمد و مقرون به صرفه دارند. پیشرفت در روش‌های SEIRA، SEF، LSPR و SERS به موازات توسعه سریع عوامل خاص اتصال، باعث بهبود چشم‌انداز این روش‌ها در آینده نزدیک برای تشخیص بیماری‌های همه‌گیر می‌شود. همچنین با شناسایی مقرون به صرفه، ساده، سریع و خاص ویروس کرونا و در نتیجه کمک به کنترل بیماری همراه خواهد بود.

---

## References

1. Cheng, M. S. and C. S. Toh; "Novel biosensing methodologies for ultrasensitive detection of viruses", **Analyst**; 138, 2013.
2. Krejcová, L., P. Michálek, M. M. Rodrigo, Z. Heger, S. Krizkova, M. Vaculovicova, D. Hynek, V. Adam and R. Kizek; "Nanoscale virus biosensors: state of the art", **Nanobiosensors in Disease Diagnosis**; 4, 2015, pp.47-66.
3. Li, Z., Y. Yi, X. Luo, N. Xiong, Y. Liu, S. Li, R. Sun, Y. Wang, B. Hu and W. Chen; "Development and clinical application of a rapid IgM IgG combined antibody test for SARS CoV 2 infection diagnosis", **Journal of medical virology**; 92(9), 2020, pp.1518-1524.
4. Cella, L. N., W. Chen, N. V. Myung and A. Mulchandani; "Single-walled carbon nanotube-based chemiresistive affinity biosensors for small molecules: Ultrasensitive glucose detection", **J. Am. Chem. Soc**; 132, 2010.
5. Esfandyarpour, R., H. Esfandyarpour, J. S. Harris and R. W. Davis; "Simulation and fabrication of a new novel 3D injectable biosensor for high throughput genomics and proteomics in a lab-on-a-chip device", **Nanotechnology**; 24(46), 2013, 465301.
6. Qasim, M., D. J. Lim, H. Park and D. Na; "Nanotechnology for diagnosis and treatment of infectious diseases", **J. Nanosci. Nanotechnol**; 14, 2014.
7. M.Karimi, S. A., S. Mohebbi; "Use of nanobiosensors in disease diagnosis", The 7th National Congress on Biology and Natural Sciences of Iran 7, 2020, p.7.
8. Kirsch, J., C. Siltanen, Q. Zhou, A. Revzin and A. Simonian; "Biosensor technology: recent advances in threat agent detection and medicine", **Chem. Soc. Rev**; 42, 2013.
9. S.Mohebbi, N. B., F.Charbgo, Z.S.Farsani; "Nanotechnology RNA breakthrough for targeted release of RNA-based drugs using cell-based aptamers", **MEDICAL SCIENCES JOURNAL**; 29(4), 2019, p.8 (In Persian).
10. Tran, L. D., D. T. Nguyen, B. H. Nguyen, Q. P. Do and H. Nguyen; "Development of interdigitated arrays coated with functional polyaniline/MWCNT for electrochemical biodetection: application for human papilloma virus", **Talanta**;

- 85, 2011.
11. Ellington, A. D. and J. W. Szostak; "In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands", **Nature**; 346, 1990.
  12. Liu, X., Z. Cheng, H. Fan, S. Ai and R. Han; "Electrochemical detection of avian influenza virus H5N1 gene sequence using a DNA aptamer immobilized onto a hybrid nanomaterial-modified electrode", **Electrochim. Acta**; 56, 2011.
  13. Escosura-Muñiz, A.; "Gold nanoparticle-based electrochemical magnetoimmunosensor for rapid detection of anti-hepatitis B virus antibodies in human serum", **Biosens. Bioelectron**; 26, 2010.
  14. Zheng, S., D. K. Kim, T. J. Park, S. J. Lee and S. Y. Lee; "Label-free optical diagnosis of hepatitis B virus with genetically engineered fusion proteins", **Talanta**, 82, 2010.
  15. Jensen, S. and A. R. Thomsen; "Sensing of RNA viruses: a review of innate immune receptors involved in recognizing RNA virus invasion"; **J. Virol**; 86, 2012.
  16. Ozer, T., B. J. Geiss and C. S. Henry; "Review—chemical and biological sensors for viral detection", **J. Electrochem. Soc**; 167, 2020.
  17. R.Amirinejad, Z. S. F., S.Mohebbi; "The Application of DNA-Functionalized Gold Nanoparticles for Detection of Metabolites and Nucleic Acids in Personalized Medicine", **Personalized Medicine**; 6(21), 2021, 7.
  18. Helmerhorst, E., D. J. Chandler, M. Nussio and C. D. Mamotte; "Real-time and label-free bio-sensing of molecular interactions by surface plasmon resonance: a laboratory medicine perspective"; **Clin. Biochem. Rev**; 33, 2012.
  19. Roh, S., T. Chung and B. Lee; "Overview of the characteristics of micro- and nano-structured surface plasmon resonance sensors"; **Sensors**; 11, 2011.
  20. Sharma, A. K., R. Jha and B. D. Gupta; "Fiber-optic sensors based on surface plasmon resonance: a comprehensive review", **IEEE Sens. J**; 7, 2007.
  21. Abdulhalim, I., M. Zourob and A. Lakhtakia; "Surface plasmon resonance for biosensing: a mini-review", **Electromagnetics**; 28, 2008.
  22. Kretschmann, E. and H. Raether; "Radiative decay of non-

- radiative surface plasmons excited by light", **Z. Naturforsch; Sect A** 23, 1968.
23. Jahanshahi, P., E. Zalnezhad, S. D. Sekaran and F. R. M. Adikan; "Rapid immunoglobulin M-based dengue diagnostic test using surface plasmon resonance biosensor", **Sci. Rep**; 4, 2014.
  24. Chen, H.; "Mass spectroscopic characterization of the coronavirus infectious bronchitis virus nucleoprotein and elucidation of the role of phosphorylation in RNA binding by using surface plasmon resonance", **J. Virol**; 79, 2005.
  25. Wang, X.; "Gold nanorod-based localized surface plasmon resonance biosensor for sensitive detection of hepatitis B virus in buffer, blood serum and plasma", **Biosens. Bioelectron**; 26, 2010.
  26. Park, T. J., M. S. Hyun, H. J. Lee, S. Y. Lee and S. Ko; "A self-assembled fusion protein-based surface plasmon resonance biosensor for rapid diagnosis of severe acute respiratory syndrome", **Talanta**; 79, 2009.
  27. Nehl, C. L. and J. H. Hafner; "Shape-dependent plasmon resonances of gold nanoparticles", **J. Mater. Chem**; 18, 2008.
  28. Li, M., S. K. Cushing and N. Wu; "Plasmon-enhanced optical sensors: a review", **Analyst**; 140, 2015.
  29. Cao, J., E. Galbraith, T. Sun and K. Grattan; "Comparison of surface plasmon resonance and localized surface plasmon resonance-based optical fibre sensors", *Journal of Physics: Conference Series*, IOP Publishing, 2011.
  30. Mayer, K. M., J. H. Hafner and A. À. Antigen; "Localized surface plasmon resonance sensors", **Chem. Rev**; 111, 2011.
  31. Weerathunge, P.; "Ultrasensitive colorimetric detection of murine norovirus using NanoZyme aptasensor", **Anal. Chem**; 91, 2019.
  32. Tsang, M. K.; "Ultrasensitive detection of Ebola virus oligonucleotide based on upconversion nanoprobe/nanoporous membrane system", **ACS Nano**; 10, 2016.
  33. Qiu, G., Z. Gai, Y. Tao, J. Schmitt, G. A. Kullak-Ublick and J. Wang; "Dual-functional plasmonic photothermal biosensors for highly accurate severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 detection", **ACS nano**; 14(5), 2020, pp.5268-5277.
  34. Moitra, P.; "Selective naked-eye detection of SARS-CoV-2

- mediated by N gene targeted antisense oligonucleotide capped plasmonic nanoparticles", **ACS Nano**; 14, 2020.
35. Bantz, K. C.; "Recent progress in SERS biosensing", **Phys. Chem. Chem. Phys.**; 13, 2011.
  36. Moore, T. J., A. S. Moody, T. D. Payne, G. M. Sarabia, A. R. Daniel and B. Sharma; "In vitro and in vivo SERS biosensing for disease diagnosis", **Biosensors**; 8(2), 2018, p.46.
  37. Le, R. u. E. C., E. Blackie, M. Meyer and P. G. Etchegoint; "Surface enhanced raman scattering enhancement factors: a comprehensive study", **J. Phys. Chem.**; C 111, 2007.
  38. Maneeprakorn, W., S. Bamrungsap, C. Apiwat and N. Wiriyaichaiorn; "Surface-enhanced Raman scattering based lateral flow immunochromatographic assay for sensitive influenza detection", **RSC Adv**; 6, 2016.
  39. Li, J. F., C. Y. Li and R. F. Aroca; "Plasmon-enhanced fluorescence spectroscopy", **Chem. Soc. Rev**; 46, 2017.
  40. Inci, F.; "Nanoplasmonic quantitative detection of intact viruses from unprocessed whole blood"; **ACS Nano**; 7, 2013.
  41. Amenabar, I., S. Poly, W. Nuansing, E. H. Hubrich, A. A. Govyadinov, F. Huth, R. Krutokhvostov, L. Zhang, M. Knez and J. Heberle; "Structural analysis and mapping of individual protein complexes by infrared nanospectroscopy", **Nature communications**; 4(1), 2013, 1-9.
  42. Ngo, H.; "DNA bioassay-on-chip using SERS detection for dengue diagnosis", **Analyst**; 139, 2014.
  43. Yang, X.; "Nanomaterial-based plasmon-enhanced infrared spectroscopy", **Adv. Mater**; 30, 2018.
  44. Ataka, K. and J. Heberle; "Biochemical applications of surface-enhanced infrared absorption spectroscopy", **Anal. Bioanal. Chem**; 388, 2007.