

طراحی حسگر آنزیم سکتۀ قلبی تروپونین I براساس اسپکتروسکوپی رامان در حضور نانوذرات طلا

مریم سلیمی نسب^۱
علیرضا بهرامپور^۲
محمدحسین زندی^۳

^۱ کارشناسی ارشد فوتونیک، گروه فوتونیک، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی کرمان، کرمان، ایران
^۲ استادیار فیزیک، دانشکده فیزیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران
^۳ استادیار فیزیک، گروه فیزیک، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

نویسنده مسئول: مریم سلیمی نسب، تلفن ۰۹۱۷۳۰۳۳۶۰۸
پست الکترونیک: m.saliminasab@yahoo.com

خلاصه

مقدمه: سال ها است که استفاده از روش اپتیکی اسپکتروسکوپی رامان تقویت شده سطحی در حضور نانو ذرات طلا، در آشکارسازی بیومولکول ها با حساسیت و سرعت بالا مورد توجه بوده است. در این مقاله از یک تشدیدگر میکروکرۀ جفت شده به فیبر نوری با نانوذرات طلا براساس اسپکتروسکوپی رامان تقویت شده سطحی به عنوان حسگری فوق حساس برای آشکارسازی آنزیم سکتۀ قلبی تروپونین I استفاده شده است.

روش بررسی: نور با استفاده از لیزر قابل تنظیم دیود (Diod) با توان پمپ ۱ mW از طریق فیبر نوری وارد تشدیدگر می شود و پلاسمون های سطحی روی سطح نانوذرات طلا را برانگیخته می کند. با تشدید پلاسمون های سطحی در طول موج $\lambda = 545/6$ نانومتر، میدان پمپ تقویت شده و سیگنال رامان خروجی لیزر افزایش می یابد.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهند که میدان الکترومغناطیسی اطراف نانوذرات طلا تا مرتبۀ 10^{12} تقویت شده است. باتوجه به این میدان فوق العاده قوی، سیگنال رامان تقویت می شود. تغییرات خطی توان سیگنال رامان خروجی بر حسب تعداد مولکول های تروپونین، نشانگر وجود تروپونین I در اطراف تشدیدگر است.

واژه های کلیدی: اسپکتروسکوپی رامان، پلاسمون سطحی، تروپونین I، نانوذرات طلا

مقدمه

امروزه، سکتۀ قلبی یا انفارکتوس میوکارد که نوعی عارضۀ فراگیر است، یکی از علل مهم مرگ و میر در جهان به شمار می رود. سالیانه حدود هشت میلیون بیمار با درد قفسۀ سینه در بخش فوریت های بیمارستان ها تحت درمان قرار می گیرند. حدود ۳۰ درصد این بیماران مبتلا به عارضۀ کرونری حاد هستند. اقدامات اولیه تشخیصی بیماران با درد قفسۀ سینه شامل بررسی وجود عوامل خطر در فرد، معاینات بالینی، الکتروکاردیوگرام و تست های تشخیصی آزمایشگاهی بر روی خون است. باتوجه به حساس بودن بیماری های قلبی و اهمیت درمان به موقع آن، تست های تشخیص آزمایشگاهی در تشخیص سریع و به موقع این عارضه و شروع درمان و یا تعیین ریسک حمله قلبی مجدد در آینده از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند [۱]. مهم ترین مارک هایی که روی خون اندازه گیری می شوند، آنزیم های قلبی می باشند که تحت عنوان مارک های آسیب عضلۀ قلب شناخته شده اند.

کمپلکس تروپونین شامل سه زیر واحد تروپونین I (cTnI)، تروپونین T (cTnT) و تروپونین C (cTnC) از ترکیب های پروتئینی واحد انقباضی ماهیچه های مخطط است که ارتباط بین آکتین و میوزین را توسط کلسیم در عضله تنظیم می کند. مطالعات بالینی متعددی نشان داده اند [۲] که در اثر آسیب عضلۀ قلب، آنزیم قلبی کراتین کیناز^۴ (CK)، میوگلوبین^۵ (MB)، ایزوآنزیم آن (CK-MB) و cTnI و cTnC در خون آزاد می شوند. CK و CK-MB در هر دو عضلۀ قلبی و اسکلتی یافت می شوند در نتیجه در صورت صدمه به عضلۀ اسکلتی افزایش خواهند یافت که می تواند تشخیص سکتۀ قلبی را با مشکل روبه رو کند. cTnI فقط در صورت بروز حمله قلبی از ماهیچه های مخطط قلب آزاد می شود و میزان آن در خون بالا می رود. غلظت تروپونین

¹ Cardiac Troponin I

² Cardiac Troponin T

³ Cardiac Troponin C

⁴ Creatine Kinase

⁵ Myoglobin

استفاده می‌شود. در این بررسی از یک میکروتشددیدگر اپتیکی جفت‌شده به فیبر نوری به‌عنوان حسگر اختصاصی cTnI استفاده شده است. با انباشته شدن نور درون میکروتشددیدگر، زمینه برای ایجاد آثار غیر خطی با توان آستانهٔ خیلی پایین لیزر مانند پراکندگی رامان برانگیخته فراهم می‌آید [۱۱]. اما به دلیل ضعیف بودن سیگنال‌های رامان با قرار دادن نانوذرات طلا روی سطح تشدیدگر که منجر به تشدید پلاسمون‌های سطحی و در نتیجه تقویت سیگنال رامان می‌شود، حساسیت سیستم بالا می‌رود. فاکتور تقویت میدان الکترومغناطیسی تا مرتبهٔ 10^{12} به دست آمده است که با استفاده از این میدان فوق‌العاده قوی، سیگنال خروجی لیزر رامان قابلیت آشکارسازی مولکول‌های cTnI را خواهد داشت.

طراحی حسگر cTnI

سیستم حسگر طراحی‌شده میکروتشددیدگر جفت‌شده به فیبر نوری در حضور نانوذرات طلا برای آشکارسازی cTnI در شکل ۱ نشان داده شده است. با استفاده از روش المان محدود (FEM)، معادلات ماکسول در حوزهٔ زمان را حل می‌کنیم و میدان الکترومغناطیسی درون میکروتشددیدگر و فیبر نوری را به‌دست خواهیم آورد. در این سیستم، میکروتشددیدگر به شکل کره از جنس سیلیکا، که با ذوب کردن نوک کابل فیبر نوری توسط لیزر CO_2 ساخته می‌شود، با ضریب شکست $1/59$ و شعاع $1 \mu m$ با فیبر نوری تک‌مد با ضریب شکست $1/46$ و پهنای $2 \mu m$ جفت شده است. تعدادی ذرهٔ کروی طلا به شعاع 50 نانومتر به‌صورت تصادفی روی سطح میکروکره قرار داده شده است. با استفاده از یک لیزر قابل تنظیم دیود (Diod) با توان پمپ $1 mW$ ، نور با طول موج تشدید $\lambda = 545/6$ نانومتر به درون فیبر نوری تک‌مد وارد می‌شود. با در نظر گرفتن فاصلهٔ جدایی فیبر نوری از میکروکره، $200-100$ نانومتر، فوتون‌ها به خارج از مرز تونل می‌زنند و نور از موجبر فیبر نوری به میکروتشددیدگر منتقل می‌شود. با ورود نور درون میکروتشددیدگر در طول موج تشدید، مدهای اپتیکی درون آن که مدهای تالاری نجوا (WGMs) نامیده می‌شوند، به حالت تشدید درمی‌آیند. WGMs که به‌صورت حلقه‌ای درخشان در اطراف سطح داخلی میکروکره ظاهر می‌شوند، پدیدهٔ تشدید را به‌وضوح نشان می‌دهند (شکل ۲-الف). درواقع در این حالت، امواج اپتیکی هم‌فاز با هم همپوشانی انجام می‌دهند و تداخل سازندهٔ آن‌ها منجر به تقویت شدت میدان

در حدود $4-6$ ساعت اول حملهٔ قلبی افزایش می‌یابد و بعد از $24-10$ ساعت به حداکثر میزان خود ($1-3 ng/ml$) می‌رسد و تا $10-7$ روز پس از سخته در خون قابل تشخیص است. بنابراین، انجمن کاردیولوژی اروپا و کالج کاردیولوژی آمریکا cTnI را به‌عنوان یک آزمون استاندارد طلایی برای تشخیص سختهٔ میوکارد معرفی کرده‌اند [۱-۳]. در تشخیص این بیومارکر از روش‌های بیوشیمیایی همچون الایزا و ایمونوکروماتوگرافی استفاده می‌شود [۴]، اما با توجه به وقت‌گیر بودن روش‌های بیوشیمیایی مرسوم در آشکارسازی cTnI، به طراحی حسگر اپتیکی فوق حساس با سرعت و دقت بالا در دستیابی به تشخیص و درمان زودرس سختهٔ میوکارد، که بتواند جایگزین این روش‌ها شود، نیاز احساس می‌شود. استفاده از تکنیک‌های اپتیکی از جمله اسپکتروسکوپی لیزر رامان در طراحی و ساخت حسگرهای بیولوژیکی برای طیف‌سنجی بیومولکول‌ها از سال‌ها پیش مورد توجه بوده است [۵]. اما به دلیل ضعیف بودن سیگنال رامان خروجی لیزر، استفاده از نانو ساختارهای طلا و نقره با خاصیت اپتیکی منحصربه‌فرد برای تقویت سیگنال و بالا بردن حساسیت سیستم حسگری پیشنهاد شده است. این پدیده که اولین بار توسط ام جی فلیشمن در سال ۱۹۷۴ کشف شد، اسپکتروسکوپی رامان تقویت‌شدهٔ سطحی (SERS) نام دارد [۶]. از SERS در تکنولوژی طراحی و ساخت بیوحسگرهای اپتیکی جهت ردیابی سلول‌های زنده و جمع‌آوری اطلاعاتی راجع به ساختار مولکولی با حساسیت بالا در علوم پزشکی و زیستی استفاده شده است [۷ و ۸]. زیرلایه‌های SERS^۲، الکترودهای ناهموار نقره، نانوذرات کلئیدی طلا و نقره و نیز ورق‌های پوشیده‌شده با لایه‌های نانوذرات طلا و نقره هستند. ترکیب ذرات فلزی تأثیر زیادی در شدت سیگنال SERS دارند. به این دلیل مهم‌ترین و مؤثرترین زیرلایه‌های SERS از فلز طلا و نقره ساخته شده‌اند [۹].

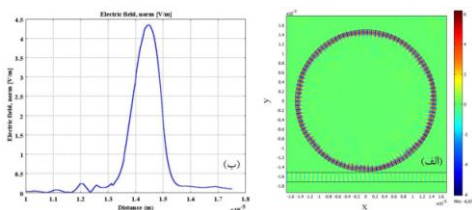
در این مقاله بیوحسگری اپتیکی براساس SERS در حضور نانوذرات طلا برای آشکارسازی cTnI در نمونهٔ خون فرد بیمار پیشنهاد شده است. در فلزات نجیب مانند طلا با کاهش اندازهٔ ذره تا مقیاس نانو یک نوار جذب قوی در ناحیهٔ طیف مرئی ایجاد می‌شود که منشأ آن نوسان الکترون‌های باند رسانش است. به این نوسانات پلاسمون سطحی می‌گویند. از نانوذرات فلزی طلا به‌دلیل تشدید پلاسمون سطحی که یک مد قوی محدود به سطح بین فلز و دی‌الکتریک است [۱۰]، در کشف و ردیابی بیومولکول‌هایی همچون cTnI که در خون فرد بیمار غلظت خیلی کمی دارد،

³ Finite Element

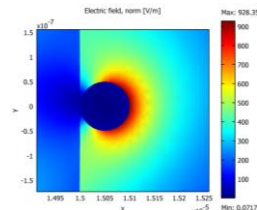
⁴ Whispering Gallery Modes

¹ Surface-Enhanced Raman Spectroscopy

² Substrate



شکل ۲: (الف) تشدید WGMs درون میکروکره، (ب) توزیع میدان الکتریکی در درون و بیرون میکروکره در عدم حضور نانوذره طلا

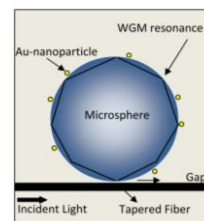


شکل ۳: برانگیختن پلاسمون سطحی جایگزیده اطراف نانوذره طلا با استفاده از نانوذرات طلا سیگنال رامان با توجه به فاکتور تقویت الکترومغناطیسی افزایش می‌یابد. در تقویت الکترومغناطیسی، میدان الکتریکی اطراف نانوذره به علت برانگیختگی پلاسمون‌های سطحی تقویت می‌شود. بنابراین فاکتور تقویت میدان الکترومغناطیسی با توان چهارم نسبت میدان جایگزیده اطراف سطح نانوذره طلا به میدان فرودی طبق رابطه زیر داده می‌شود [۶ و ۱۳]:

$$G_{SERS} = \left| \frac{E_{local}}{E_0} \right|^4 \quad (1)$$

که E_{local} میدان تقویت‌شده جایگزیده نزدیک سطح نانوذره طلا و E_0 میدان تحریک‌کننده فرودی می‌باشد. در این بررسی با به کار بردن ۲۰ عدد نانوذره طلا روی سطح حسگر، سیگنال رامان تا مرتبه 10^{12} تقویت خواهد شد که میدان الکتریکی تقویت‌شده به صورت میانگین روی سطح تمام ذرات در نظر گرفته شده است. این میزان از تقویت در مقایسه با حالتی که نانوذرات نقره به صورت محلول در اطراف میکروکره سیلیکایی قرار گرفته‌اند، 10^4 برابر بیشتر است [۱۴]. همچنین فاکتور تقویت الکترومغناطیسی در یک میکروحلقه آغشته به توده‌ای از نانوذرات نقره 10^6 به دست آمده است [۱۵] که 10^6 برابر کمتر از فاکتور تقویت الکترومغناطیسی به دست آمده در این تحقیق است. تغییرات میدان الکتریکی درون و بیرون از سطح میکروکره در حضور یک نانوذره کروی طلا به شعاع ۵۰ نانومتر روی سطح سمت راست میکروکره در راستای شعاعی در منحنی شکل (۴-الف) نشان داده شده است. با توجه به این منحنی، میدان الکتریکی درون میکروکره نزدیک به مرکز کره بیشینه شده است که این میدان الکتریکی در واقع همان مدهای اپتیکی WGM هستند که به حالت تشدید درآمده‌اند. این میدان قبل از مرکز کره

در ناحیه مد تشدید می‌شود. همان‌طور که در منحنی شکل (۲-ب) دیده می‌شود، میدان در راستای شعاعی کره یک مقدار ماکزیمم دارد که با دور شدن از سطح کره مقدار آن به صورت نمایی کاهش می‌یابد. وجود بخشی از میدان الکترومغناطیسی خارج از سطح میکروتشدیدگر که با محیط اطراف برهمکنش چشم‌گیری دارد، استفاده از تشدیدگر را در آشکارسازی گستره وسیعی از آنالیت‌ها نظیر پروتئین‌ها، آنتی‌بادی-آنتی‌ژن، ویروس‌ها و پیوندهای DNA و RNA امکان‌پذیر می‌سازد [۱۲]. اما از آن‌جاکه cTnI در خون غلظت خیلی کمی دارد، میدان الکترومغناطیسی ناپایدار و ضعیف خارج از سطح میکروتشدیدگر قادر به آشکارسازی بیومولکول روی سطح تشدیدگر نخواهد بود. در نتیجه با به کارگیری نانوذرات طلا با خاصیت اپتیکی منحصربه‌فرد روی سطح تشدیدگر، میدان الکترومغناطیسی افزایش می‌یابد و سیگنال رامان پراکنده‌شده تقویت می‌شود. در این مدل با توجه به طول موج تشدید پلاسمون سطحی، طول موج ورودی لیزر بر روی ۵۴۵/۶ نانومتر تنظیم می‌شود و مد دوقطبی پلاسمون سطحی نسبت به درجه‌های بالاتر قطبش اهمیت بیشتری خواهد داشت. شکل ۳ که نتیجه شبیه‌سازی سیستم حسگر میکروکره جفت‌شده به فیبر نوری با نانوذره طلا است، چگونگی برانگیختگی پلاسمون سطحی جایگزیده اطراف نانوذره کروی طلا توسط میدان ناپایدار خارج از میکروکره و تقویت میدان الکتریکی اطراف نانوذره طلا را نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۳ میدان الکتریکی تقویت‌شده اطراف نانوذره طلا در لبه‌های ذره بیشترین مقدار خود را دارد که با دور شدن از سطح ذره مقدار آن به سرعت کاهش می‌یابد. نقاطی از پلاسمون که میدان الکتریکی فوق‌العاده قوی در آن‌جا تجمع یافته است با رنگ قرمز تیره نشان داده شده است که این نواحی به اصطلاح نقاط داغ^۱ نامیده می‌شوند. از این میدان تقویت‌شده سطحی در جهت آشکارسازی cTnI با استفاده از تکنیک پراکندگی رامان تقویت‌شده سطحی می‌توان بهره جست.



شکل ۱: نمایی از حسگر میکروکره-فیبر نوری با نانو ذرات طلا برای آشکارسازی cTnI

¹ Hot Spots

می‌شود. در این تحلیل از پراکندگی ریلی، انعکاس نور از انتهای فیبر و نیز جابه‌جایی فرکانس تشدید میکروکره صرف نظر شده است [۸]. برای سادگی، حالت تشدید امواج پمپ و سیگنال رامن در نظر گرفته شده و از تقریب تغییرات آرام (SVEA) معادلات ماکسول استفاده شده است. معادلات حاکم برای امواج پمپ و سیگنال رامن به صورت زیر نوشته می‌شوند [۱۷ و ۱۸]:

$$\frac{\partial E_s}{\partial z} + \frac{1}{v_g} \frac{\partial E_s}{\partial t} = -\frac{1}{2} (\alpha_s - g_R (\Delta \omega_s) P_p) E_s \quad (2)$$

$$\frac{\partial E_p}{\partial z} + \frac{1}{v_g} \frac{\partial E_p}{\partial t} = -\frac{1}{2} \left(\alpha_p + \left(g_R (\Delta \omega_s) P_{s1} + g_R (\Delta \omega_s) P_{s2} \right) \right) E_p \quad (3)$$

که E_p و E_s به ترتیب میدان الکتریکی در فرکانس سیگنال و پمپ، α_s و α_p افت ذاتی سیلیکا در فرکانس سیگنال و پمپ، g_R و V_g نیز بهره رامن و سرعت گروه هستند. شرایط مرزی در نقطه جفت‌شدگی نور از فیبر نوری به درون میکروکره به صورت زیر نوشته می‌شوند:

$$E_s(0, t) = E_{s_i}(-i\chi) + rE_s(L, t) \quad (4)$$

$$E_p(0, t) = E_{p_i}(-i\chi) + rE_p(L, t) \quad (5)$$

که $E_p(L, t)$ و $E_s(L, t)$ به ترتیب میدان پمپ و سیگنال بعد از پیمودن محیط میکروکره، E_{pi} و E_{si} میدان ورودی سیگنال و پمپ و $E_p(0, t)$ و $E_s(0, t)$ میدان سیگنال و پمپ در نقطه ورود نور از فیبر به درون میکروکره هستند. L ، χ ، r هم به ترتیب محیط میکروکره، ضریب جفت‌شدگی بین میکروکره و فیبر نوری و ضریب عبور هستند که با رابطه $r^2 + \chi^2 = 1$ به هم مربوط می‌شوند.

با اعمال شرایط مرزی (۴) و (۵) و میانگین‌گیری روی محیط میکروکره و ضرب طرفین روابط (۲) و (۳) در مزدوج مختلطشان برای توان پمپ و سیگنال داریم:

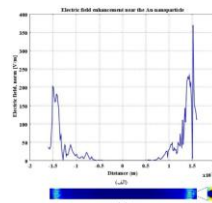
$$\frac{d\bar{P}_s}{dt} = (-\alpha_s + g_R (\Delta \omega_s) \bar{P}_p) \bar{P}_s + k_s P_{s_i} \quad (6)$$

$$\frac{d\bar{P}_p}{dt} = (-\alpha_p - g_R (\Delta \omega_s) \bar{P}_s) \bar{P}_p + k_p P_{p_i} \quad (7)$$

با حل این معادلات دیفرانسیل معمولی به روش محاسبات عددی نمودار توان پمپ و سیگنال (رامان) بر حسب زمان برای میکروکره به شعاع μm ۰.۱۵، $\chi = 0.1015$ ، $\eta = 0.5$ ، $\alpha = 0.49 \times 10^{-3}$ به صورت منحنی شکل ۵ به دست می‌آید.

طبق منحنی شکل ۵ تغییرات توان پمپ و سیگنال رامن بر حسب زمان به صورت تابع گوسی درآمده است، چون نور از یک

یعنی $m \times 10^{-5} \times 1/5$ بیشترین مقدار خود را دارا می‌باشد که با نفوذ به درون نانوذره طلا همان‌طور که در منحنی دیده می‌شود به دلیل اثر عمق پوسته افت شدیدی پیدا می‌کند. میدان الکتریکی درون طلا کمینه مقدار است و با نزدیک شدن به مرز نانوذره با شیب تندی افزایش می‌یابد که در واقع این همان مکان تشکیل پلاسمون‌های سطحی است که در آن میدان الکتریکی فوق‌العاده تقویت شده است. شکل (۴-ب) برانگیخته شدن پلاسمون سطحی اطراف نانوذره توسط میدان محوشونده میکروکره را نشان می‌دهد. همان‌طور که در منحنی شکل (۴-الف) مشاهده می‌شود با دور شدن از نانوذره، میدان الکتریکی به سرعت کاهش می‌یابد. با مقایسه میدان در سمت راست و چپ منحنی شکل (۴-الف) به تقویت میدان محوشونده و میرای خارج از سطح میکروکره در سمت راست نمودار به دلیل وجود نانوذره طلا پی‌می‌بریم. در سمت چپ این منحنی، میدان الکتریکی خارج از سطح همچنان میراست. تقویت فوق‌العاده بالای میدان الکترومغناطیسی به دلیل تشکیل پلاسمون‌های سطحی اطراف نانوذرات طلا، حسگر طراحی شده را به ابزار اپتیکی قدرتمندی برای آشکارسازی آنزیم سکنه قلبی cTnI براساس اسپکتروسکوپی رامن تقویت‌شده سطحی تبدیل می‌کند که جزئیات آشکارسازی در بخش بعدی بیان خواهد شد.



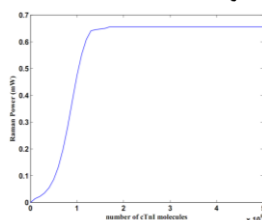
شکل ۴: (الف) توزیع میدان الکتریکی درون و بیرون میکروکره در حضور نانو ذره، (ب) تقویت میدان الکتریکی اطراف نانوذره طلا

عملکرد آشکارسازی cTnI

میکروکره‌های اپتیکی، فاکتور کیفیت بالایی دارند و قادر به انباشته کردن میدان الکترومغناطیسی هستند به همین دلیل است که آثار غیرخطی مانند پراکندگی رامن برانگیخته با توان آستانه پایین لیزر در آن‌ها رخ می‌دهد. در طی پراکندگی رامن برانگیخته، انرژی از باریکه‌ای با فرکانس بالاتر (پمپ) به باریکه‌ای با فرکانس پایین‌تر (سیگنال) منتقل می‌شود. به این پدیده تقویت رامن می‌گویند که اولین بار در سال ۱۹۷۲ استفاده از آن در فیبر نوری مطرح شد [۱۶]. با ورود همزمان نور در فرکانس پمپ و سیگنال رامن درون میکروکره و برخورد آن‌ها با مولکول‌های تروپونین روی سطح کره، پراکندگی رامن برانگیخته رخ خواهد داد. پراکندگی رامن در میکروکره جفت‌شده به فیبر نوری با استفاده از معادلات مد جفت‌شده برای میدان پمپ و سیگنال رامن بیان

¹ Slowly varying envelope approximation

شدن توان پمپ، توان رامن ثابت می‌ماند. بنابراین با به‌کارگیری تغییرات توان خروجی لیزر رامن، مولکول‌های cTnI قابل آشکارسازی خواهند بود.



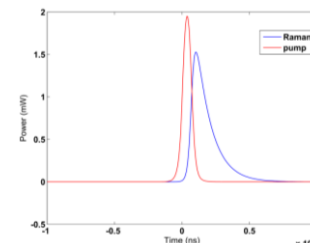
شکل ۶: تغییرات توان سیگنال رامن خروجی لیزر برحسب غلظت cTnI

بحث و نتیجه‌گیری

در این مقاله حسگری اپتیکی شامل میکروتشددیگر جفت‌شده به فیبر نوری با نانوذرات طلا براساس تکنیک اسپکتروسکوپی رامن تقویت‌شده سطحی برای آشکارسازی آنزیم سکت قلبی (cTnI) طراحی و پیشنهاد شده است. نور با استفاده از یک لیزر پالسی قابل تنظیم دیود (Diod) با توان پمپ ۱ mW به درون تشدیدگر جفت می‌شود و مدهای اپتیکی درون آن به حالت تشدید درمی‌آیند. باتوجه به انباشتگی میدان الکترومغناطیسی درون میکروکره سیلیکایی و وجود میدان ناپایدار خارج از آن، همان‌طور که در شکل‌ها نشان داده شده است، حسگر میکروکره در آشکارسازی بیومولکول‌ها از قابلیت بالایی برخوردار است. از آن‌جا که میدان ناپایدار در خارج از تشدیدگر میکروکره به‌صورت نمایی کاهش می‌یابد، میکروکره به‌تنهایی قادر به آشکارسازی آنزیم cTnI با غلظت پایین در خون نخواهد بود. بنابراین سیستمی مرکب از تشدیدگر میکروکره با نانوذرات طلا روی سطح آن برای آشکارسازی آنزیم cTnI مطلوب می‌باشد.

با برخورد نور در طول موج $\lambda = 545/6$ نانومتر با نانوذرات طلا روی سطح میکروتشددیگر و تشکیل پلاسمون‌های سطحی جایگزیده، میدان الکترومغناطیسی اطراف ذرات فوق‌العاده افزایش می‌یابد و میدان پمپ ورودی افزایش پیدا می‌کند و در نتیجه سیگنال رامن خروجی لیزر تقویت می‌شود. استفاده از نانوذرات طلا با شعاع ۵۰ نانومتر در این سیستم، فاکتور تقویت میدان الکترومغناطیسی از مرتبه 10^{12} را نتیجه می‌دهد که نتیجه قابل قبولی می‌باشد درحالی‌که تشدیدگر میکروحلقه با فاکتور کیفیت پایین‌تر و همچنین طول موج تحریکی بالاتر (۷۸۵ نانومتر) در حضور نانوذرات نقره فاکتور تقویت الکترومغناطیسی را 10^6 برابر کمتر نشان می‌دهد. انرژی پمپ تقویت‌شده به‌علت تشکیل پلاسمون‌های سطحی در نانوذرات طلا همان‌طور که در محاسبات نشان داده شده است، در طی پراکندگی به‌طور کامل تخلیه و تمام انرژی به سیگنال رامن منتقل می‌شود. با افزایش تعداد

لیزر پالسی به درون میکروکره جفت شده است. فرکانس پمپ و سیگنال رامن همزمان از طریق فیبر نوری به درون میکروکره وارد می‌شوند. با ورود فرکانس پمپ، مدهای اپتیکی درون میکروکره (WGMS) برانگیخته می‌شود و میدان ناپایدار خارج از میکروکره با نانوذرات طلا برهمکنش می‌کند. در برخورد نور در فرکانس تشدید پلاسمون ($\lambda = 545/6$ نانومتر) با نانوذرات طلا، پلاسمون‌های سطحی دوقطبی اطراف نانوذره تشکیل می‌شود که به تقویت میدان الکترومغناطیسی و در نتیجه افزایش میدان پمپ انتخاب‌شده می‌انجامد. از آن‌جا که فرکانس پمپ بالاتر از فرکانس سیگنال رامن است، انرژی به‌طور پیوسته از فرکانس پمپ به فرکانس سیگنال رامن منتقل می‌شود. بنابراین سیگنال رامن دیرتر به مقدار بیشینه خود می‌رسد و زمان واهلش آن نیز بیشتر است. در نتیجه با یک اختلاف زمانی همان‌طور که در منحنی شکل ۵ دیده می‌شود، توان سیگنال افزایش می‌یابد. این منحنی، پراکندگی رامن برانگیخته در میکروکره و چگونگی تبدیل انرژی از فرکانس پمپ به سیگنال رامن را به‌طور واضح نشان می‌دهد. به این ترتیب به‌دلیل وجود نانوذرات طلا و تشدید پلاسمون سطحی، توان سیگنال رامن تقویت‌شده و پراکندگی رامن در حضور مولکول‌های cTnI رخ خواهد داد. بنابراین با تقویت سیگنال رامن، خروجی لیزر و در نتیجه بهره لیزر رامن افزایش می‌یابد.



شکل ۵: تغییرات توان پمپ و سیگنال رامن بر حسب زمان

با استفاده از مقادیر بهره رامن (g_R) تروپونین برحسب فرکانس برای غلظت مشخصی از تروپونین می‌توانیم مقدار بهره رامن را برای یک تک‌مولکول تروپونین محاسبه کنیم و از آن‌جا مقدار کلی بهره رامن برای N تعداد مولکول به‌صورت زیر تعریف می‌شود: (۸)

$$g_R = Ng'_R$$

که g'_R مقدار بهره رامن برای تک‌مولکول تروپونین است. با تقویت سیگنال رامن در محل مولکول‌های آنزیم تروپونین I، امکان آشکارسازی این آنزیم تا حد بالایی فراهم می‌شود. محاسبات نشان می‌دهد که توان سیگنال تقویت‌شده رامن به‌صورت خطی به غلظت cTnI وابسته است. وابستگی خطی بیشینه توان رامن برحسب غلظت تروپونین در شکل ۶ رسم شده است. این منحنی نشان می‌دهد که با افزایش غلظت تروپونین I، توان سیگنال رامن افزایش می‌یابد و بعد از مدتی به‌دلیل قطع

به دلیل آشکارسازی آنزیم cTnI در نمونه خونی بیمار، روش به کار گرفته شده در این بررسی جراحی است. بنابراین طراحی حسگری غیر جراحی با حساسیت بالا که توانایی آشکارسازی آنزیم cTnI از روی پوست بیمار را دارد، در آینده پیشنهاد می شود.

مولکول های تروپونین I سیگنال رامن افزایش می یابد و بعد از مدتی به دلیل تخلیه کامل انرژی پمپ، سیگنال رامن ثابت می ماند. با استفاده از این سیگنال قوی خروجی لیزر، آشکارسازی آنزیم cTnI در نمونه خونی فرد بیمار امکان پذیر است. روش تحلیلی و محاسبات ما رابطه خطی بین سیگنال خروجی لیزر و تعداد مولکول های cTnI را نشان می دهد.

References

1. Khan IA, Wattanasuwan N. Role of biochemical markers in diagnosis of myocardial infarction. *Int J Cardial* 2005; 104(2): 238-40.
2. Jaffe AS, Landt Y, Parvin CA. Comparative sensitivity of cardiac troponin I and lactate dehydrogenase isoenzymes for diagnosing acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1996; 42(11): 1770-6.
3. Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, Delmez JA, Apple FS, Ladenson JH. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circul* 1993; 88(1): 101-6.
4. Katus HA, Remppis A, Looser S, Hallermeier K, Scheffold T, Kuber W. Enzyme linked immuno assay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients. *J Mol.Cell. Cardiol* 1989; 21: 1349-53.
5. Petry R, Schmitt M, Popp J. Raman spectroscopy: a prospective tool in the life sciences. *ChemphysChem* 2003; 4: 14-30.
6. Kneipp K, Wang Y, Kneipp H, Perelman LT, Itzkan I, Dasari IR, Feld M. Single molecule detection using Surface-Enhanced Raman Scattering(SERS). *Physical review letters* 1997; 78: 1667-70.
7. Abalde-Cela S, Aldeanueva-Potel P, Mateo-Mateo C, Rodriguez-Lorenzo L, Alvarez-Puebla R, Liz-Marzan L. Surface-enhanced Raman scattering biomedical applications of plasmonic colloidal particles. *J. R. Soc. Interface* 2010; 7: 435-50.
8. Kneipp J, Kneipp H, Wittig B, Kneipp K. Novel optical nanosensors for probing and imaging live cells. *Nanomedicine* 2010; 6(2): 214-26.
9. Mortazavi D, Z. Kouzani A, Kaynak A. Nano-plasmonic Biosensors: A Review. *Proceeding of the 2011 IEEE/ICME Harbin, China*: 22-5.
10. Maier SA, Atwater HA. Plasmonics: Localizations and guiding of electromagnetic energy in metal/dielectric structures. *Journal of Applied Physics* 2005; 98: 011101.
11. Spillane SM, Kippenberg TJ, Vahala KJ. Ultralow-threshold Raman laser using a spherical dielectric microcavity. *Nature* 2002; 415: 621-3.
12. Yilmaz YO. Optical biosensors based on microspheres. *Phd Thesis* 2004, Bogazici University.
13. Maier SA. *Plasmonics: Fundamentals and Applications*. Springer Science 2007.
14. White IM, Fan X. Demonstration of composite microsphere cavity and surface Enhanced Raman Spectroscopy for Improved Sensitivity. *SPIE* 2005; 5994: 59940G.
15. White IM, Gohring J, Fan X. SERS-based detection in an optofluidic ring resonator platform. *Optics express* 2007; 15: 17433-42.
16. Islam MN. *Raman Amplifiers for Telecommunications*. Springer 2004.
17. Kippenberg TJ. *Nonlinear Optics in Ultra-high-Q Whispering-Gallery Optical Microcavities*. *Phd Thesis* 2004, California Institute of Technology.