

## تشخیص اختصاصی آفاتوکسین G1 بر مبنای رنگ‌سنجی آپتاسنسور به‌وسیله سوسپانسیون نانو ذرات طلا شده

آرزو هاشم‌نیا<sup>1</sup> - وحید حکیم‌زاده<sup>2\*</sup>

تاریخ دریافت: 1396/11/21

تاریخ پذیرش: 1398/01/17

### چکیده

آفاتوکسین‌ها سموم قارچی طبیعی هستند که از گونه‌های قارچ آسپرژیلوس مانند آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس نشأت می‌گیرند. این سموم اگر از راه مواد خوراکی وارد بدن شوند می‌توانند سرطان‌زا باشند. روش‌های تشخیصی متفاوتی برای آفاتوکسین وجود دارد که زمان‌بر و پرهزینه می‌باشد. روش آپتاسنسورهای رنگ‌سنجی به‌وسیله نانو ذرات طلا سوسپانسیون شده در آب، روشی سریع و اختصاصی می‌باشد که با استفاده از یک ملکول شناساگر با درجه انتخابی بالا انجام می‌شود. در این پژوهش آپتامری با توالی GTTGGGCACGTGTTGTCTCTCTGTGTCTCGTGGCCCTTCGCTAGGCCACA برای تشخیص چهار آفاتوکسین B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> استفاده شد. نتایج نشان داد که این آپتامر به‌طور اختصاصی توانایی تشخیص آفاتوکسین G<sub>1</sub> را داشت به نحوی که هنگام اضافه شدن آفاتوکسین G<sub>1</sub> به محلول حاوی آپتامر و نانوذرات طلا، آپتامر دچار تغییر ساختار شده و از نانو ذرات طلا جدا می‌شود و جذب آفاتوکسین می‌گردد. پس از جدا شدن آپتامر، نانوذرات ناپایدار شده بلافاصله تجمع و رسوب داده که منجر به تغییر رنگ از قرمز به بنفش می‌گردند. اما در مورد سایر آفاتوکسین‌های مورد بررسی چنین تغییر رنگی مشاهده نشد که نشان‌دهنده آن است که این آپتامر در برابر آن‌ها به تغییر ساختار حساس نیست و اختصاصی عمل نمی‌کند.

واژه‌های کلیدی: آپتامر، آفاتوکسین، بیوسنسور، سوسپانسیون، نانوذرات طلا.

### مقدمه

سوسپانسیون نانوذرات طلا هنگامی که در معرض یک پرتو نور سفید قرار می‌گیرد، نور رنگی پراکنده می‌کند و می‌تواند همانند محلول‌های فلورسانس ظاهر شوند (Eustis, 2004 and Shankar et al., 2006). پراکندگی نور به اندازه، شکل و کامپوزیت نانوذرات حساس است به‌طوری‌که نانوذرات کروی با اندازه 58 نانومتر، نور سبز و هنگامی که 78 نانومتر باشد، نور زرد را پراکنده می‌کنند. از این نظر، نانوذرات طلا دارای پتانسیل بالایی برای کاربردهای تصویربرداری پزشکی می‌باشند (Akbari et al., 2011). اگرچه احتمال سمیت نانوذرات مانند نانوذرات نقره وجود دارد اما نانوذرات طلا دارای سمیت نیست (Pan et al., 2007).

آپتامرها لیگونوکلوئیدهای کوتاه تک رشته‌ای DNA و یا RNA و یا پروتئین‌های اختصاصی هستند که این توانایی را دارند که به‌طور اختصاصی به هدفشان متصل شوند. پایه و اساس شناسایی هدف توسط آپتامرها، ساختار سوم تشکیل شده توسط آن‌ها می‌باشد (Blank and Stoltenburg et al., 2007; Blind, 2005). آپتامرها آنقدر اختصاصی عمل می‌کنند که می‌توانند حتی بین مولکول‌های کایرال نیز

هنگامی که اندازه ماده به مقیاس طولی در حد نانومتر (طول حرکت الکترونی که خواص ماده را تعیین می‌کند) کاهش می‌یابد خواص الکترونی و بنابراین خواص شیمیایی آن به شدت تغییر می‌کند. در نانوذراتی مانند طلا و نقره، نوسان منسجم تجمی از الکترون‌ها در نوار رسانش، میدان‌های الکتریکی سطحی بزرگی را القا می‌کند که در صورت برهمکنش با تابش رزونانسی الکترومغناطیسی، خواص تابشی آن‌ها به شدت افزایش می‌یابد (El-Sayed, 2001). این روند باعث می‌گردد فرآیند جذبی این نانوذرات چندین برابر نیرومندتر از فرآیند جذبی قویترین مولکول‌های جاذب شود و نور پراکنده شده از آن‌ها نیز چندین برابر شدیدتر از فلورسانس رنگ‌های آلی باشد (Link and El-Sayed, 1999; Yguerabide, 1998). این خواص منحصر به‌فرد، پتانسیل بالایی را برای این نانوذرات فراهم می‌کند تا بتوانند در بسیاری از کاربردها مانند سنسورهای بیوشیمیایی، تصویربرداری بیولوژی و درمان‌های پزشکی مورد استفاده قرار گیرند (Freund and Spiro, 1986; Mirkin et al., 1996 and Hirsch et al., 2003).

\* نویسنده مسئول: (Email: v.hakimzadeh@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.70900

1 و 2 - به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

سوپرنانت به دست آمده از مرحله دوم با 1500 میکرولیتر آب مقطر به خوبی مخلوط گردید (Shankar et al., 2004).

### سنتز آپتامر

آپتامرها طی فرایند SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) انتخاب و تکثیر شدند. فرایند SELEX یک تکنیک برون تنی برای انتخاب، تکثیر و غنی سازی الیگونوکلئوتیدهای تک رشته‌ای (که برای هدف مورد نظر اختصاصی هستند) از میان کتابخانه‌ای از توالی اسیدهای نوکلئیک به شکل تصادفی است (Davis et al., 1996; Gopinath, 2007). نقطه شروع در فرایند SELEX ایجاد خزانه‌ای از DNA یا RNA است که حاوی 135-133 قطعه تک رشته‌ای از DNA باشد. معمولاً توالی منطقه وسط رشته‌ها تصادفی و حاوی حدود 80-20 نوکلئوتید است اما دو توالی مشخص و ثابت در دو طرف آن‌ها وجود دارد که حدوداً حاوی 21-18 نوکلئوتید است (Stoltenburg et al., 2007).

- مراحل فرایند SELEX به صورت خلاصه شامل مراحل زیر است:
- 1 اتصال: اتصال نوکلئوتیدها به مولکول هدف
  - 2 شستشو: جداسازی کمپلکس آپتامر-هدف از سایر نوکلئوتیدهای باند نشده
  - 3 جداسازی: جداسازی آپتامر از هدف مربوطه
  - 4 تکثیر: تکثیر آپتامر مورد نظر توسط PCR به منظور اصلاح خصوصیات آپتامرهای انتخاب شده
  - 5 آماده سازی: شامل جدا کردن دو رشته DNA و کاهش غلظت هدف به منظور افزایش تمایل آپتامرهای انتخاب شده (Blank and Stoltenburg et al., 2007; Blind, 2005).

### غلظت سازی آفلاتوکسین‌ها

آفلاتوکسین‌های  $G_1$ ،  $G_2$ ،  $B_1$ ،  $B_2$  از شرکت سیگما خریده شد. سپس غلظت‌های مختلفی برای ساختن محلول‌های استوک از صفر تا 2000 نانومولار تهیه شد (Amini et al., 2014).

### روش انجام آزمون

آزمون در یک پلیت 96 خانه انجام شد و برای هر غلظت سه تکرار در نظر گرفته شد. در هر آزمون 100 میکرولیتر از محلول نانوذرات طلا آماده شده در مرحله قبل در 11 غلظت و سه تکرار در خانه‌های پلیت تزریق شد. سپس 15 میکرولیتر از آپتامر با غلظت 5 میکرومول به همراه 10 میکرولیتر آب مقطر به خانه‌ها اضافه گردید و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق گرمخانه گذاری شد. پس از گذشت این مدت 25 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین به همراه 15 میکرولیتر محلول نمک 2 مولار و 35 میکرولیتر آب مقطر به خانه‌ها اضافه شد و پس از اختلاط

تفاوت قائل شوند و قادرند یک اپی‌توپ متفاوت از مولکول هدف را تشخیص بدهند به طوری که حتی بین دو هدف مرتبط و نزدیک به هم از نظر ساختاری مانند کافئین و تتوفیلین تفاوت قائل می‌شوند (Stoltenburg et al., 2007). یکی از مزیت‌های مهم آپتامرها نسبت به آنتی‌بادی‌ها، اندازه کوچکتر آن‌ها می‌باشد که سبب نفوذ راحت‌تر و موثرتر آن‌ها می‌شود. همچنین آپتامرها سمیت و یا مشکلات ایمنولوژی نداشته و یا میزان آن‌ها بسیار کم است. در ضمن به راحتی اصلاحات شیمیایی روی آن‌ها انجام می‌شود و می‌توان مقدار زیادی از آن‌ها را با هزینه کم تولید کرد. به علاوه چون به صورت برون تنی تهیه می‌شوند بدون نگرانی از نظر سمیت و ایمنولوژی قابل استفاده هستند، همچنین در برابر شرایط احیاء کننده و دمای بالا پایدار بوده و از نظر اختصاصیت و تمایل برای هدف اگر بیشتر از آنتی‌بادی نباشند کمتر از آن‌ها نیستند (Que and Sullenger, 2007; Hicke et al., 2006; Ohuchi et al., 2006). بنابراین بیوسنسورهایی که از آپتامرها به عنوان عناصر شناسایی کننده زیستی استفاده می‌کنند، به عنوان آپتاسنسور شناخته می‌شوند (Zhou et al., 2011; Hermman and Patel, 2000).

آفلاتوکسین‌ها سمومی هستند که به وسیله تعدادی از قارچ‌ها که عمدتاً از خانواده اسپریژیلوس‌ها هستند بر روی خوراک دام و مواد غذایی رشد می‌کنند و نسبت به سایر سموم قارچی به علت اثرات سرطان زایی و ایجاد مسمومیت‌های حاد از اهمیت بیشتری برخوردارند. در طبیعت چهار نوع آفلاتوکسین اصلی شامل  $B_1$ ،  $B_2$ ،  $G_1$  و  $G_2$  و دو نوع محصولات متابولیکی از آنها به نام‌های  $M_1$  و  $M_2$  وجود دارند که می‌توانند خوراکی‌های دام و انسان همانند ذرت، سورگوم، گندم، سویا، کنجاله پنبه دانه، بادام زمینی، آجیل‌ها و خشکبار را آلوده سازند (Alex et al., 2014). در این تحقیق با توجه به زیان‌های زیاد ناشی از آفلاتوکسین‌ها به مواد زراعی و مسمومیت‌های ناشی از آن‌ها شناسایی سریع این سموم به روش آپتاسنسور مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

#### سنتز و آماده سازی نانوذرات طلا

ابتدا محلول با غلظت 50 میلی‌مولار از نمک تتراکلرید طلا تهیه شد و سپس 2 میلی‌لیتر از آن به حجم 100 میلی‌لیتر رسانده شد و هنگام حرارت دادن آن مقدار 10 میلی‌لیتر سیترات سدیم 38 نانومولار نیز به آن اضافه گردید. محلول پس از 20 دقیقه حرارت دادن برای سرد شده به داخل یخچال انتقال یافت.

برای هر تست میزان نانوگلد مورد نیاز طی دومرحله با سرعت 12000 rpm در دمای اتاق به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ گردید. به این صورت که پس از اتمام دور اول سانتریفوژ، مایع رویی یا سوپرنانت برداشته شد و با آب مقطر مخلوط و دوباره سانتریفوژ گردید. در نهایت

یافتند. این تغییر رنگ با چشم مشاهده شد و رنگ نانوذرات طلا پس از آلوده شدن از قرمز به بنفش تغییر رنگ می‌دهند. از نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که این آنتامر برای آفلاتوکسین G<sub>1</sub> هدفمند بوده و قادر به شناسایی آن بر اساس رنگ‌سنجی می‌باشد.

چن و همکاران (2013)، از یک روش کالریمتریک ساده و مشابه برای تشخیص یون پتاسیم استفاده کردند. آزمایش‌های کالریمتریک در نتایج این محققین نشان داد که پس از اضافه کردن یون K<sup>+</sup> کمپلکس anti-K<sup>+</sup> در محلول از ساختار پیچشی به ساختار فشرده و سختی به نام G-quadruplex تغییر می‌کند. که این ساختار باعث تغییر رنگ از قرمز به بنفش می‌شود که این تغییر رنگ قابل مشاهده است و با چشم مسلح دیده می‌شود. در تحقیق مشابه دیگر تاکور و همکاران (2013)، از تکنیک بیوسنسور کالریمتریک توسط آنتامر بر پایه نانوذرات طلا برای تشخیص ژن P53، که یک پروتئین سرکوبگر تومور است، استفاده کردند. نتایج این محققین نشان داد که دفع P53 از سطح سوسپانسیون نانوذرات طلا و اتصال آن به آنتامر RNA باعث تجمع نانوذرات طلا شده و در نتیجه منجر به تغییر رنگ سوسپانسیون از قرمز به بنفش گردید.

دقیق آن (از طریق مکش و رانش سمپلر که اصطلاحاً Up & Down نام دارد) در دستگاه الایزایدنر میزان جذب آن قرائت گردید.

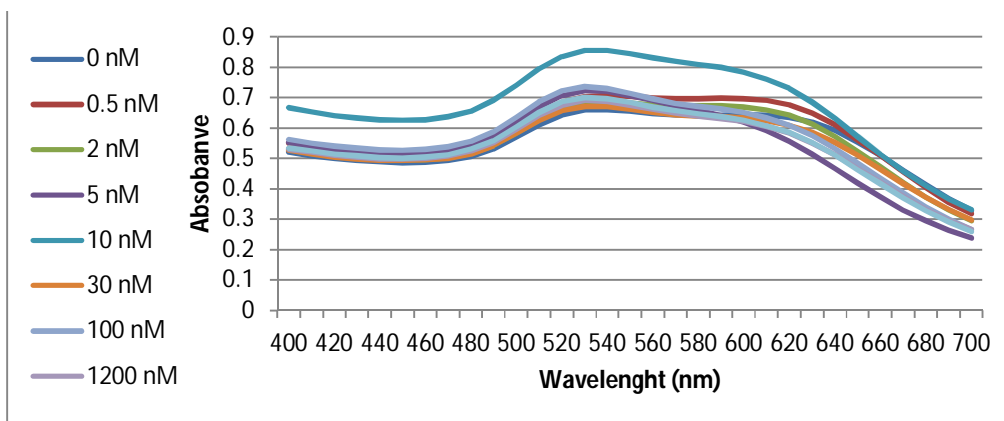
### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج به دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار Gen5 مورد ارزیابی قرار گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### آفلاتوکسین G<sub>1</sub>

میزان جذب محلول‌هایی که با آفلاتوکسین G<sub>1</sub> مخلوط شده است را می‌توان در شکل 1 مشاهده کرد. همانطور که در شکل دیده می‌شود نمونه‌ها در دو طول موج 520 و 620 نانومتر بیشترین جذب را داشتند. همانطور که می‌دانیم ذرات طلا در 520 نانومتر بیشترین جذب را دارند اما وقتی که ذرات طلا تجمع می‌یابند در 620 نانومتر بیشترین جذب را خواهند داشت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که آفلاتوکسین G<sub>1</sub> به این آنتامر اتصال برقرار کرده است. به عبارت دیگر، آنتامری که در ابتدا با نانوذرات طلا اتصال برقرار کرده بود پس از اضافه کردن آفلاتوکسین از ذرات طلا جدا شده و به آفلاتوکسین متصل شد و ذرات طلا تجمع



شکل 1- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G<sub>1</sub>

نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> نیز بیشترین جذب را در 520 نانومتر نشان دادند و میزان جذب در طول موج‌های بعدی کاهشی بود بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این آنتامر نیز برای آفلاتوکسین B<sub>1</sub> هدفمند نبوده و قابلیت اتصال به آن و آزادسازی نانوذرات طلا را ندارد (شکل 3).

#### آفلاتوکسین B<sub>2</sub>

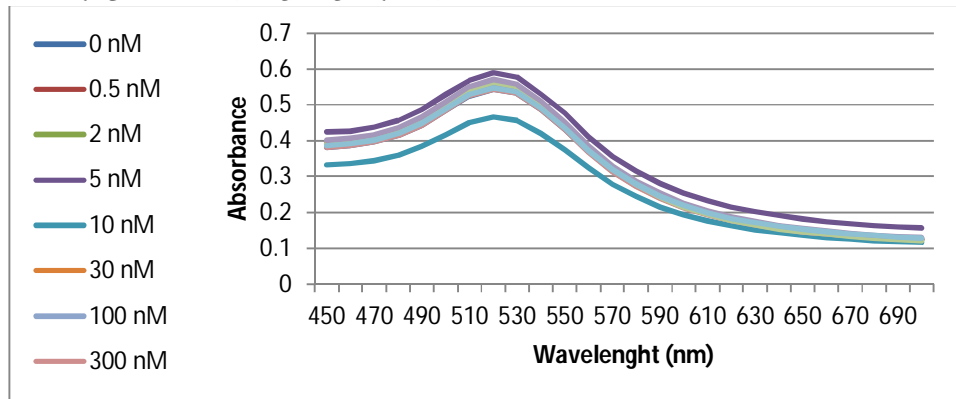
همانطور که در شکل 4 نیز دیده می‌شود نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B<sub>2</sub> هم نتوانستند با آنتامر مد نظر اتصال برقرار کنند و در نتیجه ذرات طلای سوسپانسیون شده به صورت مجتمع در نیامده و

#### آفلاتوکسین G<sub>2</sub>

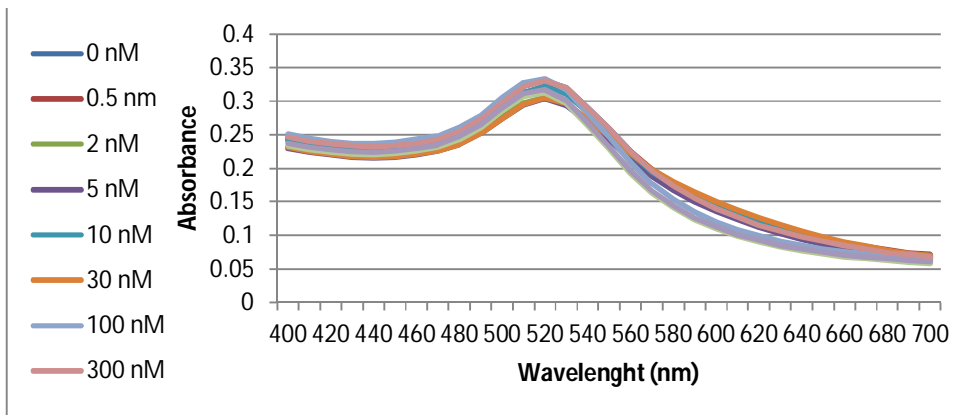
همانطور که در نمودار جذب مربوط به نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G<sub>2</sub> دیده می‌شود (شکل 2) بیشترین جذب فقط در طول موج 520 نانومتر اتفاق افتاد و از آن به بعد میزان جذب روند نزولی داشت. به عبارت دیگر میزان جذب فقط مربوط به نانوذرات طلا بوده و بعد از آن ذرات طلا نتوانستند با هم تجمع پیدا کنند. به بیان دیگر آنتامر با آفلاتوکسین G<sub>2</sub> اتصال نداشته و این آنتامر برای تشخیص آفلاتوکسین G<sub>2</sub> هدفمند نیست.

#### آفلاتوکسین B<sub>1</sub>

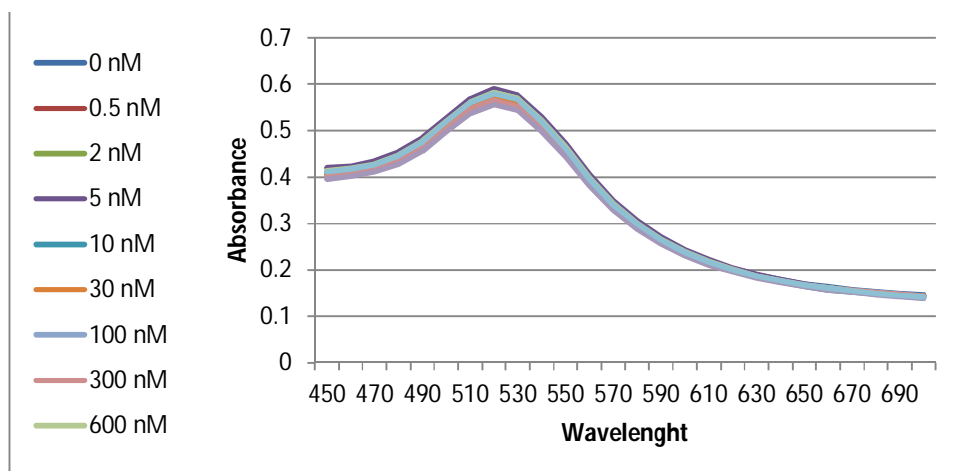
جذب دیگری را پس از 520 نانومتر نشان ندادند. از این رو این آپتامر نیز برای شناسایی آفلاتوکسین B<sub>2</sub> اختصاصی و مناسب نبود. در شکل 5 نیز می‌توان به وضوح تغییر رنگ نمونه های حاوی آفلاتوکسین G<sub>1</sub> را پس از لینک شدن با آپتامر ملاحظه نمود که برای سایر آفلاتوکسین‌ها این تغییر رنگ دیده نمی‌شود.



شکل 2- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G<sub>2</sub>



شکل 3- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B<sub>1</sub>



شکل 4- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B<sub>2</sub>



شکل 5- تفاوت تغییر رنگ نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G<sub>1</sub> (چپ) با سایر نمونه‌ها (راست)

برای آفلاتوکسین G<sub>1</sub> نشان داده شد و این آپتامر توانایی اتصال به سایر آفلاتوکسین‌ها یعنی G<sub>2</sub>، B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> در حضور نانوذرات را نداشت. این آپتاسنسور توانایی کاربرد تشخیصی را برای موارد مختلفی مانند وجود آفلاتوکسین در غلات و دانه‌های روغنی دارد

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی اساس این تشخیص تمایل بالای آپتامر مذکور برای اتصال به آفلاتوکسین مناسب و در نتیجه جدا شدن از نانوذرات طلا بود که منجر شد نانوذرات طلا پس از جدا شدن تجمع یافته و با تغییر رنگ از قرمز به بنفش در طول موج دیگری جذب بالایی را نشان دهند. در این تحقیق تمایل اتصال این آپتامر در حضور نانوذرات طلا فقط

### منابع

- Akbari, B Pirhadi Tavandashti, A and Zandrahimi, M. 2011. Particle Size Characterization of Nanoparticles- a Practical Application”, *Iranian Journal of Materials Science & Engineering*, 8 (2): 48-56.
- Alex P. Wacoo, Deborah Wendiro, Peter C. Vuzi, and Joseph F. Hawumba. 2014. Methods for Detection of Aflatoxins in Agricultural Food Crops. *Journal of Applied Chemistry* Volume 2014, Article ID 706291, 1-15
- Amini A., Afzali-Grooh D., Chamsaz M. 2014. Determination of Aflatoxins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in Powdered Milk Using Modified Liquid Chromatography Method, 21 (4): 321-331.
- Blank M, Blind M. 2005. Aptamers as tools for target validation. *Current Opinion in Chemical Biology*. 9(4):336-42.
- Chen A, Liu J, Guan Z, LV Z, Jiang X, Yang S. 2014. Improving sensitivity of gold nanoparticle based fluorescence quenching and colorimetric aptasensor by using water resuspended gold nanoparticle. *Biosensors and Bioelectronics* 52 (15), 265-270.
- Davis KA, Abrams B, Lin Y, Jayasena SD. 1996. Use of a high affinity DNA ligand in flow cytometry. *Nucleic Acids Research*. 24(4):702-6.
- El-Sayed M.A. 2001. Some Interesting Properties of Metals Confined in Time and Nanometer Space of Different Shapes. *Acc. Chem. Res.*, 34 (4), pp 257–264.
- Freund, P. L., Spiro, M. (1986). *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, 82, 2277.
- Gopinath SCB. 2007. Methods developed for SELEX. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*.387(1):171-82.
- Hermann T, Patel DJ. 2000. Adaptive recognition by nucleic acid aptamers. *Science*. ;287(5454):820
- Hicke BJ, Stephens AW, Gould T, Chang Y-F, Lynott CK, Heil J, et al. 2006. Tumor Targeting by an Aptamer. *J Nucl Med*. 2006 1, 47(4):668-78.
- Hirsch, L. R., Stafford, R. J., Bankson, J. A., Sershen, S. R., Rivera, B., Rrice, R. E., Hazle, J. D., Halas, N. J. West, J. L. 2003. Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 100(23):13549-54.
- Link S and El-Sayed M.A. 1999. Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods. *J. Phys. Chem. B* 103, 8410-8426.
- Mirkin CA, Letsinger RL, Mucic RC, Storhoff JJ. 1996. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic material. *J. Nature*, 382(6592):607-9.
- Ohuchi SP, Ohtsu T, Nakamura Y. 2006. Selection of RNA aptamers against recombinant transforming growth factor- $\beta$  type III receptor displayed on cell surface. *Biochimie*. 88(7): 897-904.
- Pan, Y et al, 2007. Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles. *Small*, 3 (11): 1941-1949.

- Que-Gewirth NS, Sullenger BA. 2007. Gene therapy progress and prospects: RNA aptamers. *Gene Therapy*, 14(4):283-91.
- Shankar, S.S, Rai, A, Ahmad, A, Sastry, M. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticle using neem (*Azadirachta indica*) leaf broth", *Colloid Interface Sci*, 2004,275,496-502.
- Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. 2007. SELEX--a (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. *Biomol Eng. [Review]*. 24(4):381-403.
- Susie Eustis. 2006. Gold and Silver Nanoparticles: Characterization of Their Interesting Optical Properties and the Mechanism of Their Photochemical Formation. thesis for the DegreeDoctor. Georgia Institute of Technology.
- Thakur M.S, Shwetha N, Selvakumar L.S. 2013. Aptamer-nanoparticle-based chem luminescence for p53 p *Anal. Biochem*, 262(2):137-56.
- Yguerabide J, Yguerabide E 1998. Light-scattering submicroscopic particles as highly fluorescent analogs and their use as tracer labels in clinical and biological applications. *Anal. Biochem*, 262(2):137-56.
- Zhou L, Wang MH, Wang JP, Ye ZZ. 2011. Application of Biosensor Surface Immobilization Methods for Aptamer. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 39(3):432-8.



## Proprietary diagnosis of aflatoxin G<sub>1</sub> based on aptasensor colorimetry using gold nanoparticles Suspension

A. Hashemnia<sup>1</sup>, V. Hakimzadeh<sup>2\*</sup>

Received: 2018.02.10

Accepted: 2019.04.06

**Introduction:** When the size of a material is reduced to the nanometer length scale, the electron properties and therefore its chemical properties change greatly. In nanoparticles such as gold and silver, the coherent oscillation of electrons in the conduction strip creates large surface electric fields which, when they interact with electromagnetic resonance radiation, their radiant properties rises sharply. This process causes the absorption process of these nanoparticles to be several times stronger than the absorption process of the strongest adsorbent molecules and their scattered light is several times more intense than the organic materials fluorescence. These unique properties provide a high potential for these nanoparticles to be used in many applications such as biochemical sensors, biomedical imaging and medical treatments. Aptamers are single-stranded oligonucleotides, DNA, RNA or proprietary proteins that have the ability to attach specifically to their target. The basis for identifying the target by aptamers is the third structure formed by them. One of the important benefits of aptamers to antibodies is their smaller size, which makes them more easily and effectively penetrated. It also has neither toxicity nor immunogenicity unless in very low levels. Therefore, biosensors that use aptamers as biological identifiers are known as aptasensors. In this research, due to the high losses caused by aflatoxins to the crops and their toxicity, the rapid detection of these pesticides by aptasensor method was investigated.

**Materials and methods:** The test was carried out in a 96-well plate and for each concentration three replicates were considered. In each test, 100  $\mu$ l of the nano gold solution, which was centrifuged twice at 12000 rpm and at room temperature, was thrown into 11 concentrations and three repetitions in the plate houses. Then adding 15  $\mu$ lit of aptamer at a concentration of 5  $\mu$ mol plus 10  $\mu$ lit of distilled ultrapure water to the houses and incubate for 30 minutes at room temperature. After this time, 25  $\mu$ lit of different concentrations of aflatoxin plus 15  $\mu$ lit of 2 molar salt solutions and 35  $\mu$ lit of distilled water were added to the houses and, after mixing (up and down) in the ELISA reader, absorbed it we read.

**Results and discussions:** At first, with adding the aptamer to Nano gold particles a complex between nanoparticles and aptamer is created. But in present of suitable aflatoxin, the complex of nanoparticle and aptamer is separated and a new complex between aflatoxin and nanoparticle is formed. Subsequently the color is changed to purple. This color change is visible to the eye, indicating that the Aptamer is suitable for Target. In this study, it was found that an aptamer with GTTGGGCACGTGTTGTCTCTCTGTGTCTCGTGCCCTTCGCTAGGCCACA sequence only affects aflatoxin G<sub>1</sub> and other aflatoxins such as B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, and G<sub>2</sub> should be considered as another sequencer for Aptamer.

**Keyword:** Aptamer, Aflatoxin, Biosensors, Gold nanoparticles, Suspensions.

1 and 2. Department of food science and technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.  
(\*- Corresponding Author Email: v.hakimzadeh@yahoo.com)