

DOI: 10.58490/ctjump.2026i94.4307

**HẠT NANO VÀNG VỎ ĐỒNG VÀ SINH PHẨM TÁI TỔ HỢP:
TRIỂN VỌNG CHO XÉT NGHIỆM NHANH ĐỘ NHẠY CAO****Phan Lê Minh Tú***

Trường Đại học Phan Châu Trinh

*Email: tu.plm@pctu.edu.vn

Ngày nhận bài: 11/10/2025

Ngày phản biện: 12/01/2026

Ngày duyệt đăng: 25/01/2026

TÓM TẮT

Các bệnh lý như lao và Alzheimer đòi hỏi phát hiện sớm với độ nhạy cao để can thiệp kịp thời, tuy nhiên các kỹ thuật hiện nay như ELISA, PCR còn hạn chế về chi phí và độ nhạy. Những tiến bộ gần đây trong công nghệ nano cho thấy hạt nano vàng vỏ đồng kết hợp sinh phẩm tái tổ hợp (protein hoặc aptamer) có thể khuếch đại tín hiệu màu, mở ra triển vọng cho chẩn đoán sớm siêu nhạy. Bài tổng quan này phân tích cơ chế kỹ thuật xét nghiệm kháng nguyên bằng sự hình thành vỏ nano đồng trên hạt vàng, trong đó ion Cu^{2+} được khử bởi natri ascorbate trên bề mặt AuNPs với vai trò ổn định của polyethylenimine, tạo cấu trúc Au-Cu đa giác giúp tăng cường tín hiệu plasmon. Hai biến thể được khảo sát gồm hệ kháng thể tái tổ hợp GBP-CFP10G2/GBP-50B14 phát hiện kháng nguyên lao CFP-10, Ag85B, và hệ aptamer nhận biết p-tau231 hoặc A β O42 trong Alzheimer. Các hệ này đạt giới hạn phát hiện thấp đến mức picogram/mL và có thể quan sát bằng mắt thường. Phương pháp Au@Cu thể hiện ưu điểm nổi bật về độ nhạy, chi phí thấp và khả năng tích hợp với nền tảng giấy hoặc thiết bị di động, nhưng vẫn tồn tại thách thức về tính ổn định của lớp đồng, khả năng phản ứng chéo và chuẩn hóa quy trình. Triển vọng tương lai hướng đến cải thiện vật liệu nano, tự động hóa quy trình trên nền vi kênh và ứng dụng trí tuệ nhân tạo trong định lượng tín hiệu, hướng tới nền tảng xét nghiệm nhanh, chính xác và thân thiện chi phí cho chẩn đoán sớm tại cộng đồng.

Từ khóa: Nano vàng vỏ đồng, protein tái tổ hợp, aptamer, tăng cường màu, chẩn đoán sớm.

ABSTRACT**COPPER-ENHANCED GOLD NANOPARTICLES AND RECOMBINANT BIOPRODUCTS: PROMISE FOR RAPID, HIGHLY SENSITIVE TESTING****Phan Le Minh Tu***

Phan Chau Trinh University

Diseases such as tuberculosis and Alzheimer's require early detection with high sensitivity for timely intervention, however, current techniques such as ELISA, PCR are limited in cost and sensitivity. Recent advances in nanotechnology have shown that copper-shelled gold nanoparticles combined with recombinant biologicals (proteins or aptamers) can amplify the color signal, opening up prospects for ultra-sensitive early diagnosis. This review analyzes the technical mechanism of antigen testing by forming copper nanoshells on gold particles, in which Cu^{2+} ions are reduced by sodium ascorbate on the surface of AuNPs with the role of stabilizing polyethylenimine, creating a polygonal Au-Cu structure to enhance the plasmon signal. Two variants were investigated: the recombinant antibody system GBP-CFP10G2/GBP-50B14 detecting tuberculosis antigens CFP-10, Ag85B, and the aptamer system recognizing p-tau231 or A β O42 in Alzheimer's. These systems achieve detection limits as low as picograms/mL and can be observed with the naked eye. The Au@Cu method shows outstanding advantages in terms of sensitivity, low cost and integration with paper or mobile platforms, but challenges still exist in the stability of the copper layer, cross-reactivity and process standardization. Future prospects aim at improving nanomaterials,

automating microchannel-based processes and applying artificial intelligence in signal quantification, towards a rapid, accurate and cost-friendly testing platform for early diagnosis in the community.

Keywords: *copper coated gold nanoparticle, recombinant protein, aptamer, color enhancer, early diagnosis.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lao và Alzheimer hiện là những thách thức y tế công cộng hàng đầu với tỉ lệ mắc bệnh và tử vong cao trên toàn thế giới [1]. Bệnh lao được ghi nhận là một trong những bệnh truyền nhiễm gây tử vong cao nhất, với khoảng 10,6 triệu người nhiễm và 1,3 triệu ca tử vong vào năm 2024, đặc biệt ảnh hưởng nặng nề đến các nước thu nhập thấp và trung bình [2], [3]. Đồng thời, bệnh Alzheimer ảnh hưởng đến khoảng 50 triệu người trên toàn cầu và con số này dự kiến sẽ tăng gấp ba vào năm 2050 do sự già hóa dân số. Việc phát hiện sớm có ý nghĩa lâm sàng quan trọng, giúp ngăn chặn sự lây truyền của bệnh lao và cho phép bắt đầu các liệu pháp điều trị kịp thời để cải thiện chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân Alzheimer [1], [4]. Tuy nhiên, một bộ phận lớn bệnh nhân vẫn chưa được chẩn đoán, dẫn đến những gánh nặng kinh tế và xã hội không lồ do chi phí chăm sóc giai đoạn muộn [1], [5].

Các phương pháp chẩn đoán truyền thống hiện nay còn nhiều hạn chế đáng kể, cản trở việc quản lý bệnh hiệu quả [3]. Đối với bệnh lao, soi kính hiển vi đờm có độ nhạy thấp ở giai đoạn sớm, trong khi nuôi cấy vi khuẩn là tiêu chuẩn vàng chẩn đoán lại mất từ 2 đến 8 tuần để có kết quả. Các xét nghiệm phân tử như GeneXpert có độ nhạy cao hơn nhưng lại đắt đỏ và khó triển khai ở những vùng hạn chế về nguồn lực, đồng thời tốn thời gian và yêu cầu trang bị phức tạp [6]. Tương tự, chẩn đoán Alzheimer thường dựa vào các bài kiểm tra nhận thức hoặc kỹ thuật chẩn đoán hình ảnh và xét nghiệm dịch não tủy vốn tốn kém, xâm lấn và yêu cầu trang thiết bị phức tạp cùng nhân lực trình độ cao [1]. Việc phát hiện sớm các dấu ấn sinh học như amyloid β ($A\beta$) và tau phosphoryl hóa có thể giúp can thiệp kịp thời, nhưng hiện nay các xét nghiệm thường yêu cầu thiết bị đắt tiền (MRI, ELISA,...) và chưa đạt đủ độ nhạy cần thiết cho giai đoạn sớm [7]. Những hạn chế này tạo ra nhu cầu cấp bách về các công cụ chẩn đoán mới có độ chính xác cao, thời gian nhanh chóng, chi phí thấp và dễ dàng tiếp cận.

Xu hướng phát triển cảm biến sinh học hiện nay tập trung vào các cảm biến sinh học nano và xét nghiệm tại chỗ nhằm đáp ứng tiêu chuẩn REASSURED về tính khả thi và hiệu quả [8, 9]. Việc tích hợp các hạt nano kim loại quý như hạt nano vàng (AuNPs) mang lại khả năng chẩn đoán siêu nhạy nhờ các đặc tính quang học độc đáo và khả năng khuếch đại tín hiệu mạnh mẽ [10]. Đặc biệt, hạt nano vàng vô đồng kết hợp với các sinh phẩm tái tổ hợp như aptamer hoặc kháng thể cho phép phát hiện các dấu ấn sinh học ở nồng độ cực thấp nhờ sự thay đổi màu sắc rõ rệt khi kích thước hạt tăng lên và hình dạng hạt biến đổi. Các nền tảng dựa trên giấy và công nghệ in sáp cung cấp giải pháp xét nghiệm tại chỗ tiện lợi, cho phép phân tích định lượng bằng các thiết bị đơn giản như máy ảnh điện thoại thông minh. Sự kết hợp giữa công nghệ nano và sinh phẩm tái tổ hợp hứa hẹn mở ra triển vọng cho các phương pháp chẩn đoán siêu nhạy, giúp tối ưu hóa hiệu quả điều trị và giảm thiểu gánh nặng y tế trên phạm vi toàn cầu [10]. Kỹ thuật miễn dịch lai điểm đo màu dùng AuNPs kết hợp phủ kim loại để khuếch đại tín hiệu nhằm phát hiện protein kháng nguyên với giới hạn phát hiện (LOD) rất thấp [11], [12], [13], [14]. Cụ thể, protein tái tổ hợp được sử dụng có khả năng bám lên bề mặt AuNPs và nhận diện đặc hiệu kháng nguyên mục tiêu. Tiếp theo, quá trình tạo thành vỏ đồng trên AuNPs được thực hiện để gia tăng kích thước hạt và cường độ tín hiệu màu sắc. Mục đích tổng quan của bài viết này là khảo sát, tổng hợp kết quả từ các công trình đã công bố về việc sử dụng sinh phẩm tái tổ hợp và AuNPs khuếch

đại tín hiệu màu bằng phủ đồng trong công cụ xét nghiệm để chẩn đoán sớm các bệnh lý, tập trung vào hiệu quả và ưu nhược điểm của từng biến thể, sau đó phân tích tiềm năng ứng dụng trong chẩn đoán sớm siêu nhạy và các cải tiến cần có.

II. NGUYÊN LÝ KỸ THUẬT VÀ CƠ CHẾ HOẠT ĐỘNG

2.1. Tổng quan phương pháp tổng hợp AuNPs và cấu trúc lõi-vỏ vàng-đồng (Au@Cu)

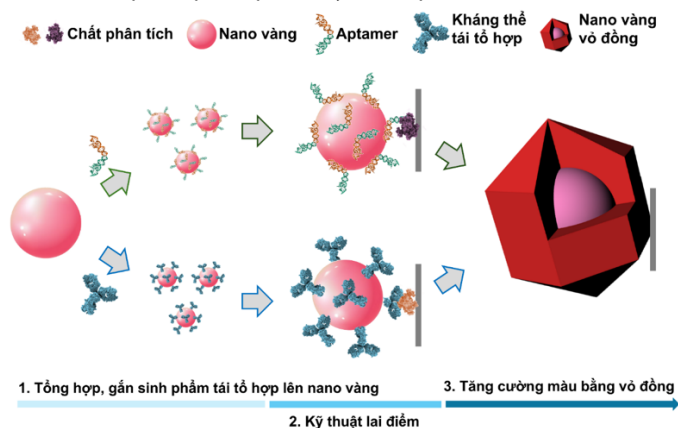
Hạt nano ở quy mô từ 1 đến 100 nanomet thể hiện các đặc tính vật lý, hóa học và sinh học độc đáo [15]. Việc tổng hợp AuNPs có thể được thực hiện thông qua hai cách tiếp cận chính, bao gồm cơ chế "từ trên xuống" (top-down) bằng cách phá vỡ vật liệu khối qua các kỹ thuật vật lý và cơ chế "từ dưới lên" (bottom-up) thông qua việc lắp ghép các nguyên tử từ quá trình khử ion kim loại [16]. Trong các phương pháp hóa học, kỹ thuật Turkevich là phổ biến nhất để tạo ra AuNPs hình cầu có kích thước từ 10-30 nm bằng cách sử dụng natri citrat làm chất khử và chất ổn định. Phương pháp Brust-Schiffrin cho phép tổng hợp các AuNPs ổn định trong dung môi hữu cơ nhờ vào liên kết mạnh giữa vàng và các nhóm chức alkanethiol [16].

Đối với cấu trúc hạt lõi-vỏ, loại vật liệu này bao gồm một lõi bên trong và một lớp vỏ bên ngoài có thành phần hóa học khác nhau nhằm mang lại các đặc tính hiệp đồng [17]. Phương pháp phát triển qua mầm là chiến lược được sử dụng rộng rãi nhất để chế tạo cấu trúc lõi-vỏ Au@Cu, trong đó các hạt vàng đóng vai trò là mầm để lớp vỏ đồng phát triển bên ngoài. Trong quy trình này, nồng độ của tiền chất vỏ cần được giữ ở mức thấp để ngăn chặn hiện tượng tự tạo mầm đồng nhất [17]. Các cấu trúc đa diện lõi vàng vỏ đồng (Au@Cu) cũng có thể được tổng hợp thông qua việc khử phức hợp đồng trên bề mặt mầm vàng dưới sự hỗ trợ của các chất hoạt động bề mặt.

2.2. Nguyên lý kỹ thuật miễn dịch lai điểm trực tiếp dùng AuNPs và cơ chế tăng cường tín hiệu màu bằng lớp phủ vỏ đồng

Kỹ thuật miễn dịch lai điểm trực tiếp là một phương pháp phân tích đơn giản và hiệu quả về chi phí, có khả năng phát hiện và chẩn đoán tại chỗ đối với nhiều bệnh lý khác nhau. Nền tảng của kỹ thuật này sử dụng màng nitrocellulose để cố định kháng nguyên cần phân tích [14]. Quy trình cơ bản của kỹ thuật lai điểm sử dụng AuNPs bao gồm việc nhỏ mẫu chứa kháng nguyên cần định lượng lên màng nitrocellulose và để khô, sau đó màng được ủ với dung dịch BSA trong 45 đến 60 phút nhằm ngăn chặn các liên kết không đặc hiệu. Tiếp theo, màng được ủ với AuNPs đã được gắn phối tử sinh học đặc hiệu với kháng nguyên như kháng thể hoặc aptamer. Từ đó, tín hiệu màu được xác định khi AuNPs gắn phối tử liên kết với kháng nguyên và được cố định trên màng. Hàm lượng kháng nguyên càng cao, tín hiệu màu càng thể hiện rõ nét. Tuy nhiên, các báo cáo chỉ ra rằng tính chất màu nội tại của AuNPs thường không đủ để nhận biết kháng nguyên ở mức nồng độ thấp. Do đó, việc tăng cường tín hiệu là cần thiết và phương pháp khuếch đại tín hiệu màu bằng dung dịch đồng đã được phát triển để tăng cường LOD [18-20]. Cơ chế hoạt động chung của phương pháp tăng cường tín hiệu màu bằng lớp phủ đồng này dựa trên sự hình thành vỏ nano đồng trên bề mặt AuNPs để khuếch đại tín hiệu màu. AuNPs, thường được tổng hợp bằng phương pháp khử citrate của Tetrachloroauric(III) acid (HAuCl_4), đóng vai trò là hạt nhân xúc tác cho quá trình tăng trưởng vỏ nano đồng. Dung dịch tăng cường tín hiệu, luôn được chuẩn bị tươi, chứa ion Cu^{2+} (CuCl_2), polyethylenimine (PEI, khối lượng phân tử trung bình 800 hoặc 1800), và chất khử là natri ascorbate. PEI chứa nhiều nhóm $-\text{NH}_2$, có khả năng liên kết

manh mẽ với ion Cu^{2+} , tạo thành phức hợp PEI- Cu^{2+} . PEI cũng đóng vai trò là chất bao bọc, giúp kiểm soát hình dạng và kích thước của cấu trúc nano phát triển. Phức hợp PEI- Cu^{2+} bắt đầu bị khử bởi natri ascorbate trên bề mặt AuNPs. Quá trình này dẫn đến sự lắng đọng và phát triển của vỏ nano đồng lên bề mặt AuNPs. Sự hình thành vỏ nano đồng làm thay đổi cấu trúc và hình thái của AuNPs, từ hình cầu kích thước khoảng 20 nm thành cấu trúc vỏ lõi đa giác Au@Cu kích thước khoảng 300 nm, dẫn đến sự tăng cường đáng kể cường độ màu sắc. Cường độ màu của vết lai tỉ lệ thuận với nồng độ của kháng nguyên cần phân tích. Sự tăng cường này chuyển màu của vết lai từ hồng nhạt thành màu đỏ đậm [11-13]. Phương pháp lai điểm sử dụng AuNPs tăng cường vỏ đồng có thể được áp dụng với các phối tử sinh học tái tổ hợp khác nhau để nhận diện mục tiêu, nổi bật với hai biến thể chính (Hình 1).

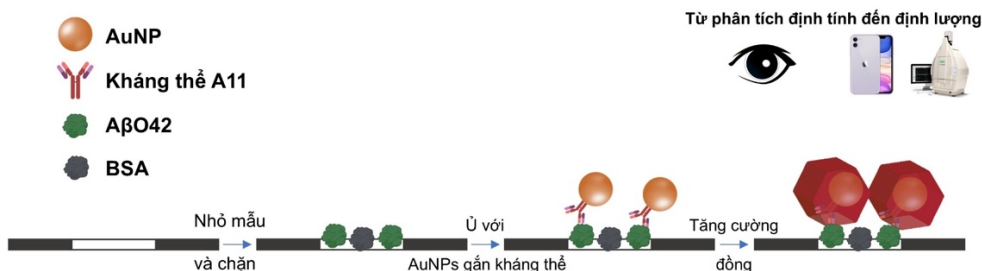


Hình 1. Cơ chế phương pháp lai điểm sử dụng sinh phẩm tái tổ hợp và nano vàng vỏ đồng

2.3. Chiến lược gắn kháng thể và aptamer lên AuNPs

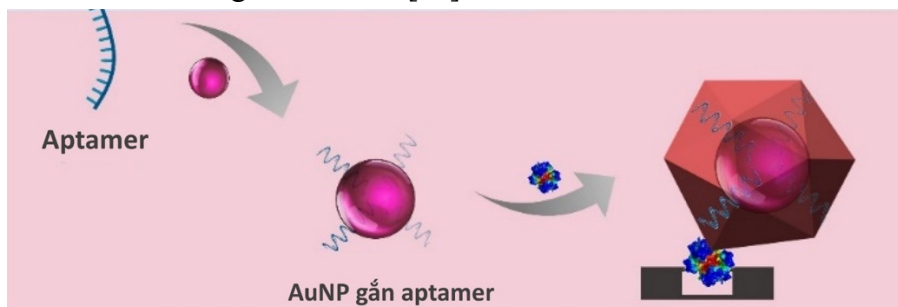
Việc gắn kết các thành phần nhận diện sinh học lên bề mặt hạt nano là yếu tố quyết định hiệu quả của các ứng dụng chẩn đoán và điều trị. Khả năng liên hợp của phối tử sinh học được chia thành hai nhóm chính, bao gồm tương tác vật lý (không cộng hóa trị) và tương tác hóa học (cộng hóa trị) [21]. Kỹ thuật lai điểm bằng AuNPs được phân làm 2 biến thể khác nhau dựa trên bản chất của phối tử sinh học được gắn trên AuNPs.

Biến thể 1: Sử dụng kháng thể tái tổ hợp đặc hiệu (hình 2). Phương pháp này sử dụng kháng thể tái tổ hợp để phát hiện các kháng nguyên như kháng nguyên CFP-10, Ag85B của bệnh lao, hoặc kháng nguyên A β O42 của bệnh Alzheimer. Trong phân tích kháng nguyên CFP-10 và Ag85B, kháng thể tái tổ hợp GBP-CFP10G2 và GBP-50B14 lần lượt được sử dụng. Đặc điểm cốt lõi của các kháng thể này là chúng được gắn thêm một peptide ái lực cao với bề mặt vàng (GBP), giúp kháng thể có ái lực liên kết cao và định hướng ổn định lên bề mặt của AuNPs. Đối với kháng nguyên A β O42, kháng thể tái tổ hợp đơn thuần được sử dụng để gắn trên bề mặt AuNPs thông qua tương tác vật lý. Sau khi kháng nguyên được cố định trên màng nitrocellulose, phức hợp AuNPs gắn kháng thể tái tổ hợp liên kết đặc hiệu với kháng nguyên, và quá trình tăng cường vỏ đồng sau đó khuếch đại tín hiệu màu, tạo ra vết đỏ [11], [12], [13].



Hình 2. Kỹ thuật lai điểm sử dụng kháng thể tái tổ hợp gắn AuNPs và khuếch đại tín hiệu phủ đồng [11]

Biến thể 2: Sử dụng aptamer thiol hóa đặc hiệu (hình 3). Phương pháp này phát hiện các dấu ấn sinh học protein như p-tau231 của bệnh Alzheimer thông qua phối tử nhận diện là aptamer đặc hiệu được thiol hóa được gắn lên bề mặt AuNPs. Trong đó, aptamer bản chất là đoạn DNA đơn có ái lực cao với kháng nguyên và được thiol hóa để bổ sung liên kết -SH, giúp aptamer có thể gắn trên bề mặt AuNPs một cách định hướng và ổn định. Tương tự như với kháng thể, sau khi kháng nguyên được cố định trên màng nitrocellulose, phức hợp AuNPs gắn aptamer liên kết đặc hiệu với p-tau231 và quá trình tăng cường vô đồng được thực hiện để khuếch đại cường độ màu sắc [22].



Hình 3. Kỹ thuật lai điểm sử dụng aptamer đặc hiệu gắn AuNPs và khuếch đại tín hiệu phủ đồng [22]

2.4. Quy trình tổng quát của hệ xét nghiệm dựa trên nano vàng vô đồng

Các hệ xét nghiệm dựa trên vật liệu nano vàng vô đồng (Au@Cu) đại diện cho một chiến lược khuếch đại tín hiệu kép, kết hợp đặc tính quang học độc đáo của AuNPs với khả năng gia tăng cường độ màu sắc thông qua quá trình phủ đồng. Quy trình vận hành của kỹ thuật lai điểm tăng cường nano vàng vô đồng bắt đầu bằng việc tổng hợp AuNPs, thường được thực hiện bằng phương pháp khử citrate của HAuCl₄, sau đó tiến hành liên hợp hóa AuNPs với phối tử tái tổ hợp (có thể là kháng thể lai như GBP-CFP10G2, GBP-50B14 hoặc A11, hay aptamer đặc hiệu được thiol hóa). Đối với kháng thể, quá trình liên hợp thường được thực hiện sau khi điều chỉnh pH dung dịch AuNPs ở pH 8,0-9,0 và thêm chất ổn định PEG8000. Sau khi dung dịch liên hợp được tinh sạch, quy trình lai điểm trên màng nitrocellulose sẽ được tiến hành. Màng nitrocellulose được tiền xử lý bằng đệm TBST trong 5-10 phút, sau đó một lượng mẫu nhỏ chứa chất phân tích mục tiêu được nhỏ lên trung tâm các buồng phản ứng và để khô. Để ngăn chặn liên kết không đặc hiệu, màng được khóa bằng dung dịch BSA 5% (w/v) trong 45-60 phút. Tiếp theo, màng được ủ với đầu dò màu AuNPs đã liên hợp (thường là 1,0-1,5 giờ) để cho phép phản ứng liên kết đặc hiệu xảy ra, sau đó màng được rửa sạch nhiều lần bằng TBST. Bước quan trọng nhất là tăng cường tín hiệu bằng vô đồng. Màng được nhúng vào dung dịch tăng cường được chuẩn bị tươi, bao

gồm CuCl_2 (0,1 M), PEI (0,5% w/v), và chất khử natri ascorbate (0,1 M), trong một khoảng thời gian được tối ưu hóa (5-10 phút), dẫn đến sự lắng đọng và phát triển của vỏ đồng trên bề mặt AuNPs. Cuối cùng, cường độ màu sắc của vết lai, chuyển sang màu đỏ đậm do sự hình thành vỏ đồng, được ghi lại và định lượng bằng mắt thường hoặc sử dụng máy ảnh kỹ thuật số như điện thoại thông minh để phân tích định lượng bằng phần mềm ImageJ [11], [12], [13].

2.5. Khả năng phân tích bằng mắt thường hoặc qua công cụ định lượng đơn giản

Cơ chế tăng cường tín hiệu của vật liệu nano lõi-vỏ vàng đồng dựa trên các hiện tượng vật lý bề mặt đặc thù. Hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ (LSPR) xảy ra khi các electron dẫn trên bề mặt hạt nano kim loại dao động tập thể dưới tác động của ánh sáng, tạo ra các dải hấp thụ mạnh mẽ [16]. Cụ thể, AuNPs có kích thước khoảng 16 nm hấp thụ mạnh nhất trong vùng ánh sáng khả kiến tại bước sóng 520 nm, tạo ra màu đỏ đặc trưng [23]. Hiệu ứng này mang lại lợi ích trong việc tạo ra các tín hiệu so màu mạnh mẽ, cho phép phát hiện bằng mắt thường mà không cần thiết bị phức tạp, đồng thời đóng vai trò là nền tảng để khuếch đại tín hiệu trong chẩn đoán y sinh [24], [25]. LSPR cho phép phát hiện các dấu ấn sinh học ở nồng độ cực thấp thông qua sự thay đổi chỉ số khúc xạ. Đối với kỹ thuật lai điểm màu, việc phát triển lớp vỏ đồng trên mầm vàng làm tăng đáng kể kích thước hạt từ khoảng 20 nm đến khoảng 300 nm và làm thay đổi hình dạng từ cầu sang đa diện, kéo theo thay đổi phổ hấp thụ từ 520 nm sang khoảng 545 nm, từ đó tạo ra tín hiệu quang học mạnh hơn, tăng cường độ màu sắc [11], [12], [13], [26]. Phương pháp này cung cấp khả năng phát hiện bằng mắt, ví dụ, quan sát CFP-10 ở nồng độ 30 pg/mL [12], một ưu điểm quan trọng cho chẩn đoán tại chỗ. Để định lượng, các hình ảnh của vết lai được chụp bằng máy ảnh kỹ thuật số hoặc điện thoại thông minh trong điều kiện ánh sáng bình thường. Sau đó, các hình ảnh này được cắt và phân tích bằng phần mềm ImageJ để định lượng cường độ tín hiệu tương đối so với nền màng [11], [12], [13], [26]. Về hiệu suất chẩn đoán, việc tăng cường bằng đồng giúp tăng độ nhạy lên gấp 8 lần so với việc chỉ sử dụng AuNPs, gấp 2 lần so với việc sử dụng bạc, cho phép đạt LOD thấp ở 7,6 pg/mL đối với kháng nguyên CFP-10 [12]. Khi so sánh với phương pháp phủ vàng (LOD 0,93 ng/mL), phủ đồng cũng cho thấy độ nhạy vượt trội (LOD 0,21 ng/mL) đối với kháng nguyên Ag85B [13]. Ngoài ra, hệ thống hình ảnh ChemiDoc cũng được sử dụng để ghi lại và định lượng cường độ màu sắc của các vết lai để xây dựng đường cong hiệu chuẩn. Kết quả định lượng bằng camera điện thoại thông minh và hệ thống ChemiDoc cho thấy sự tương đồng về độ tuyến tính, xác nhận tính khả thi của việc sử dụng các thiết bị rẻ tiền hơn như điện thoại thông minh cho việc định lượng trong các ứng dụng thực tế [11], [12], [13].

III. ÁP DỤNG LÂM SÀNG

Đối với chẩn đoán bệnh Alzheimer, phương pháp này được áp dụng để phát hiện các dấu ấn sinh học protein p-tau231, được xem là chỉ dấu ưu việt để phân biệt AD, được phát hiện thông qua kỹ thuật lai điểm sử dụng aptamer đặc hiệu p-tau231 gắn trên AuNPs và tăng cường đồng. Kỹ thuật này đạt LOD là 4,71 pg/mL khi đo bằng camera kỹ thuật số và có thể quan sát bằng mắt thường xuống đến 8 ng/mL p-tau231. Tổng thời gian thực hiện quy trình là khoảng 140 phút, và mặc dù đã chứng minh tính đặc hiệu cao, cần thêm các nghiên cứu để đánh giá tính đặc hiệu đối với các phosphoepitope khác. Ngoài ra, Amyloid beta 42 oligomers ($\text{A}\beta\text{O}42$), một dấu ấn sinh học quan trọng cho việc theo dõi sớm AD, cũng được định lượng bằng kỹ thuật lai điểm tăng cường vàng vỏ đồng sử dụng kháng thể A11, đạt LOD là 23,7 pg/mL khi sử dụng camera điện thoại thông minh và có thể quan sát

bằng mắt thường ở mức 320 pg/mL [11]. Tuy nhiên, độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật xét nghiệm chưa được đánh giá trên mẫu lâm sàng.

Trong chẩn đoán thể lao hoạt động, kỹ thuật lai điểm tăng cường vô đồng dùng kháng thể tái tổ hợp được sử dụng để phát hiện các kháng nguyên đặc hiệu của *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) trong mẫu nước tiêu. Độ chính xác chẩn đoán của kỹ thuật lai điểm tăng cường đồng trong xác định lao hoạt động phụ thuộc rõ rệt vào cấu hình kháng nguyên sử dụng. Đối với kháng nguyên Ag85B đơn lẻ, độ nhạy và giá trị tiên đoán dương (PPV) cao ở mức 90,5%, cùng với độ đặc hiệu và giá trị tiên đoán âm (NPV) ở mức 86,7%, phản ánh khả năng phát hiện ca bệnh tốt và độ tin cậy tương đối cân bằng giữa kết quả dương tính và âm tính. CFP10 đơn lẻ cho hiệu năng thấp hơn đáng kể, với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 76,2% và 66,7%, cho thấy hạn chế trong cả phát hiện ca bệnh và loại trừ lao hoạt động. Đáng chú ý, cấu hình kết hợp 2 kháng nguyên Ag85B+CFP10 làm tăng mạnh độ nhạy lên 95,2% và NPV lên 90,9%, cho thấy ưu thế rõ rệt trong việc giảm nguy cơ âm tính giả và phù hợp cho mục tiêu sàng lọc. Tuy nhiên, độ đặc hiệu của cấu hình kết hợp này giảm xuống 66,7%, phản ánh sự đánh đổi giữa độ nhạy cao và nguy cơ dương tính giả [12], [13].

IV. ƯU ĐIỂM VÀ HẠN CHẾ CỦA KỸ THUẬT

Các phương pháp lai điểm tăng cường Au@Cu nổi bật nhờ nhiều điểm thuận lợi đáng kể, khiến chúng trở thành nền tảng chẩn đoán tiềm năng cho xét nghiệm tại chỗ. Ưu điểm hàng đầu là tính đơn giản, nhanh chóng, và hiệu quả về chi phí, vì quy trình này không phụ thuộc vào các thiết bị phức tạp và đắt tiền hay yêu cầu chuyên môn kỹ thuật cao, thay vào đó có thể sử dụng các thiết bị sẵn có như camera điện thoại thông minh để định lượng tín hiệu [11], [12], [13], [22]. Việc sử dụng vô nano đồng để khuếch đại tín hiệu màu đã mang lại độ nhạy phân tích vượt trội, cho phép phát hiện nhạy cảm bằng mắt thường với độ nhạy vượt trội hơn từ 2 đến 8 lần so với kỹ thuật tăng cường bạc và cao hơn so với các kỹ thuật quang phổ khác [12]. Ngoài ra, vật liệu AuNPs được sử dụng có thể lưu trữ lâu dài, và tăng cường bằng nano vô đồng trên lõi vàng thân thiện với môi trường hơn so với tăng cường bằng nano vô vàng hay vô bạc trên lõi vàng [12], [13]. Nhờ những ưu điểm về chi phí và tính đơn giản, phương pháp này có tiềm năng ứng dụng toàn cầu, đặc biệt là ở các nước có thu nhập thấp.

Tuy nhiên, phương pháp này cũng có một số hạn chế cần lưu ý, chủ yếu tập trung vào tính đặc hiệu sinh học khi chẩn đoán một số bệnh. Cụ thể, trong chẩn đoán lao bằng kháng nguyên, kháng nguyên CFP-10 có gen đồng loại tồn tại trong một số chủng *Non-tuberculous mycobacteria* (NTM) (*M. kansasii*, *M. goodii*), và phức hợp Ag85 cũng được bảo tồn cao trong các loài mycobacteria và NTM khác [27], [28]. Điều này có thể dẫn đến phản ứng chéo rộng rãi giữa các loài khác nhau, làm giảm độ đặc hiệu lâm sàng. Mặc dù phương pháp lai điểm dùng aptamer đã chứng minh tính đặc hiệu cao đối với p-tau231 so với các dấu ấn sinh học Alzheimer khác, nhưng vẫn khuyến nghị cần có thêm đặc trưng hóa để đánh giá tính đặc hiệu đối với các phosphoepitope khác [22]. Ngoài ra, mặc dù được coi là nhanh chóng, quy trình kỹ thuật lai điểm hoàn chỉnh vẫn yêu cầu tổng thời gian tương đối dài khoảng 140 phút để hoàn thành [12], [13].

V. THÁCH THỨC, TRIỂN VỌNG TRONG NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG

Phương pháp sử dụng Au@Cu và phối tử sinh học tái tổ hợp cho thấy tiềm năng lớn trong việc tăng cường tín hiệu màu và nâng cao độ nhạy phát hiện sinh học, song vẫn tồn tại nhiều thách thức kỹ thuật và thực tiễn cần được giải quyết trước khi ứng dụng lâm sàng rộng rãi. Quá trình tổng hợp và phủ đồng đòi hỏi kiểm soát nghiêm ngặt các yếu tố

như tốc độ phản ứng, pH, nhiệt độ và nồng độ tiền chất; bất kỳ sai lệch nhỏ nào cũng có thể làm thay đổi cấu trúc vỏ, gây dao động tín hiệu quang học, làm giảm khả năng tái lập và tăng nhiễu nền [12]. Lớp đồng dễ bị oxy hóa trong điều kiện môi trường, dẫn đến suy giảm khả năng khuếch đại tín hiệu theo thời gian [12]. Việc sản xuất quy mô lớn bộ kit dung dịch đồng để tăng cường tín hiệu nano vàng đạt sự đồng nhất về kích thước và độ phủ vẫn là thách thức, do có thể có sự khác biệt nhỏ giữa các lô sản xuất có thể ảnh hưởng đáng kể đến độ nhạy và độ chính xác của xét nghiệm. Bên cạnh đó, quy trình phủ đồng và phản ứng màu hiện nay còn nhiều bước, đòi hỏi thiết bị phụ trợ và kiểm soát thời gian chính xác, chưa hoàn toàn phù hợp với các điều kiện thực tế của xét nghiệm tại chỗ. Hơn nữa, các nghiên cứu hiện tại mới dừng ở mức mô hình trong phòng thí nghiệm, thiếu bằng chứng lâm sàng quy mô lớn và đa trung tâm để xác nhận hiệu quả thực tế.

Một thách thức then chốt của các xét nghiệm chẩn đoán dựa trên kháng nguyên là kiểm soát phản ứng chéo sinh học nhằm hạn chế dương tính giả và âm tính giả. Trong bối cảnh lao, sự bảo tồn cao của CFP-10 và phức hợp Ag85 giữa *MTB* và một số chủng NTM (như *M. kansasii*, *M. goodii*) làm suy giảm độ đặc hiệu lâm sàng, đặc biệt ở quần thể có tỉ lệ phơi nhiễm NTM cao [28], [29], [30], [31]. Thách thức này đòi hỏi các chiến lược khắc phục đồng thời ở nhiều mức bao gồm tinh lọc và lựa chọn epitope đặc hiệu loài thay vì sử dụng toàn bộ kháng nguyên; thiết kế cấu hình đa dấu ấn có tính hỗ trợ sinh học nhưng được tối ưu bằng thuật toán ngưỡng để tránh cộng gộp nhiễu; tích hợp bước xác nhận thứ cấp nhằm phân biệt phản ứng đặc hiệu với phản ứng chéo; và đặc trưng hóa mở rộng trên các tập mẫu NTM và bệnh nhiễm trùng liên quan để định lượng nguy cơ phản ứng chéo trước triển khai lâm sàng. Tương tự đối với kháng nguyên p-tau231, dù đã cho thấy tính đặc hiệu cao với một phosphoepitope nhất định [22], vẫn cần đánh giá chéo có hệ thống đối với các phosphoepitope gần cấu trúc để giảm sai lệch chẩn đoán. Việc giải quyết các thách thức này là điều kiện tiên quyết để nâng cao giá trị lâm sàng và tăng tính thuyết phục đối với nhà lâm sàng.

Trong tương lai, cần cải tiến nền tảng xét nghiệm bằng cách tích hợp vàng vô đồng vào các hệ lab-on-paper, màng vi kênh để tự động hóa quy trình và phát hiện đồng thời nhiều chỉ dấu sinh học. Việc kết hợp với công nghệ số và trí tuệ nhân tạo sẽ cho phép định lượng tín hiệu màu chính xác hơn, giảm sai số chủ quan và nâng cao độ đặc hiệu thông qua phân tích hình ảnh [32]. Khi triển khai quy mô lớn, cần chuẩn hóa quy trình sản xuất, kiểm soát đồng nhất kích thước và tỉ lệ vàng/đồng, đồng thời phát triển bộ kit với thuốc thử sẵn, dễ thao tác và phù hợp cho sử dụng lâm sàng. Các nghiên cứu lâm sàng đa trung tâm, so sánh với các phương pháp chuẩn như ELISA hoặc PCR, là cần thiết để xác định giá trị thực tế. Nhìn chung, kỹ thuật nano vàng vô đồng tăng cường tín hiệu màu là hướng phát triển đầy triển vọng trong lĩnh vực xét nghiệm nhanh, nhờ khả năng khuếch đại tín hiệu mạnh, tiềm năng tự động hóa và tích hợp công nghệ số. Sự kết hợp giữa vật liệu nano tiên tiến, hệ vi lưu, trí tuệ nhân tạo và cảm biến di động được kỳ vọng sẽ tạo nền tảng cho các hệ thống xét nghiệm y học nhanh, chính xác, chi phí thấp và có thể triển khai rộng rãi trong y tế cộng đồng.

VI. KẾT LUẬN

Sự kết hợp giữa phối tử sinh học tái tổ hợp (protein, aptamer) và Au@Cu đã chứng minh khả năng nâng cao vượt trội độ nhạy và đặc hiệu trong chẩn đoán sớm với LOD ở mức picogram/mL. Mặc dù cần được chuẩn hóa và kiểm chứng lâm sàng quy mô lớn, nền tảng này có tiềm năng trở thành công nghệ xét nghiệm thế hệ mới khi tích hợp vào test nhanh, hệ lab-on-paper, màng vi kênh và thiết bị di động, hướng tới chẩn đoán sớm và quản lý bệnh tại cộng đồng với độ chính xác cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jayashree Shetty, M.K.S., Sucheta V. Kolekar, M. Mukhyaprana Prabhu, Rusheel Reddy Kotha & Siddh Bhardwaj. Early detection of Alzheimer's disease progression: comparative evaluation of deep learning models. *Scientific Reports*. 2025. 15(1). DOI:10.1038/s41598-025-27360-8.
2. World Health Organization. Tuberculosis. 2024. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>.
3. Zewei Yang, J.L., Jiawen Shen, Huiru Cao, Yuhan Wang, Sensen Hu, Yulu Du, Yange Wang, Zhongyi Yan, Longxiang Xie, Qiming Li, Salwa E. Gomaa, Shejuan Liu, Xianghui Li and Jicheng Li. Recent progress in tuberculosis diagnosis: insights into blood-based biomarkers and emerging technologies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2025. 15,1567592. DOI: 10.3389/fcimb.2025.1567592
4. K.V.L. Keerthi, N.N.S., O Brunda Sree, Naguru Subbamma, O. Adithya Karthikeya and Abhinaya Varma N. Early Detection of Tuberculosis Using SVM and FCM. Proceedings of the 1st International Conference on Research and Development in Information. Communication, and Computing Technologies. 2025.
5. Bruno Dubois, C.A.F.v.A., Nerida Burnie, Sasha Bozeat and Jeffrey Cummings. Biomarkers in Alzheimer's disease: role in early and differential diagnosis and recognition of atypical variants. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2023. 15(1),175. DOI: 10.1186/s13195-023-01314-6.
6. Karim Gasmi, A.A., Najib Ben Aoun, Mohamed O. Altaieb, Alameen E. M. Abdalrahman, Omer Hamid, Sahar Almenwer, Lassaad Ben Ammar, Samia Yahyaoui and Manel Mrabet. Early Tuberculosis Detection via Privacy-Preserving, Adaptive-Weighted Deep Models. *Diagnostics*. 2026. 16(2), 204. DOI: 10.3390/diagnostics16020204.
7. Phan, L.M.T., *et al.* Nanomaterial-based Optical and Electrochemical Biosensors for Amyloid beta and Tau: Potential for early diagnosis of Alzheimer's Disease. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2021. 21(2), 175-193. DOI: 10.1080/14737159.2021.1887732.
8. Chuntae Kim, M.S.K., Iruthayapandi Selestin Raja, Yoon Ki Joung, Dong-Wook Han, Advancements in nanobiosensor technologies for in-vitro diagnostics to point of care testing. *Heliyon*. 2024. 10(22), e40306. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e40306.
9. Mansi Parihar, N.W.N., Sahana, Rajib Biswas, Budheswar Dehury and Nirmal Mazumder. Point-of-care biosensors for infectious disease diagnosis: recent updates and prospects. *Royal Society of Chemistry*. 2025. 15(36),29267–29283. DOI: 10.1039/d5ra03897a.
10. Yubeen Lee, I.H., Sang Baek Sim and Jin-Ha Choi. Colorimetric Biosensors: Advancements in Nanomaterials and Cutting-Edge Detection Strategies. *Biosensors*. 2025. 15(6), 362. DOI: 10.3390/bios15060362
11. Phan, L.-M.-T. and S. Cho. A Multi-Chamber Paper-Based Platform for the Detection of Amyloid β Oligomers 42 via Copper-Enhanced Gold Immunoblotting. *Biomolecules*. 2021. 11(7),948. DOI: 10.3390/biom11070948
12. Le Minh Tu Phan, L.M.T.P., *et al.* Gold-copper nanoshell dot-blot immunoassay for naked-eye sensitive detection of tuberculosis specific CFP-10 antigen. *Biosens Bioelectron*. 2018. 121,111-117. DOI: 10.1016/j.bios.2018.08.068.
13. Phan, L.M.T., *et al.* Reliable naked-eye detection of Mycobacterium tuberculosis antigen 85B using gold and copper nanoshell-enhanced immunoblotting techniques. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2020. 317, 128220. DOI:10.1016/j.snb.2020.128220.
14. Surti, P.V., *et al.* Progress on dot-blot assay as a promising analytical tool: Detection from molecules to cells. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2022. 157, 116736. DOI:10.1016/j.trac.2022.116736.
15. Rudroju Anusha, A.Y., Eragari Nikhitha, Bheemari Harshitha, Algola Vamshi Krishna, Dudekula Baji Baba. A review on core shell nanoparticles: classes, synthesis, characterization of core shell nanoparticles. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 2025. 14(4), 614-622. DOI:10.18203/2319-2003.ijbcp20251848

16. Hatice Duman, E.A.s., Furkan Eker, Mikhael Bechelany, and Sercan Karav. Gold Nanoparticles: Multifunctional Properties, Synthesis, and Future Prospects. *Nanomaterials*. 2024. 14(22),1805. DOI: 10.3390/nano14221805.
17. Rui Wu, Q.D., Hairan Zhang, Pengfei Zhang, Xiaoyun Lei, Fagen Zhang. A comprehensive Review: The approach for fabrication of Core/Shell Au nanocomposite and Modification, Properties, applications of Au NPs. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2024. (4),614-622. DOI:10.18203/2319-2003.ijbcp20251848.
18. Duan, H., *et al.* Avoiding the self-nucleation interference: a pH-regulated gold in situ growth strategy to enable ultrasensitive immunochromatographic diagnostics. *Theranostics*. 2022. 12(6), 2801. DOI: 10.7150/thno.70092.
19. Ferrari, E. Gold nanoparticle-based plasmonic biosensors. *Biosensors*. 2023. 13(3), 411. DOI: 10.3390/bios13030411.
20. Sathishkumar, N. and B.J. Toley. Direct comparison of colorimetric signal amplification techniques in lateral flow immunoassays. *Analytical Methods*. 2024. 16(42), 7200-7209. DOI:10.1039/D4AY01416B.
21. Mir Hadi Jazayeri, H.A., Ali Akbar Pourfatollah, and B.S. Hamidreza Pazoki-Toroudi e, Various methods of gold nanoparticles (GNPs) conjugation to antibodies. *Sensing and Bio-Sensing Research*. 2016. DOI:10.1016/j.sbsr.2016.04.002.
22. Phan, L.M.T. and S. Cho. Fluorescent aptasensor and colorimetric aptablot for p-tau231 detection: Toward early diagnosis of Alzheimer's disease. *Biomedicines*. 2022. 10(1), 93. DOI: 10.3390/biomedicines10010093.
23. Sati, A., *et al.* From Past to Present: Gold Nanoparticles (AuNPs) in Daily Life-Synthesis Mechanisms, Influencing Factors, Characterization, Toxicity, and Emerging Applications in Biomedicine, Nanoelectronics, and Materials Science. *ACS Omega*. 2025. 10(31), 33999-34087. DOI: 10.1021/acsomega.5c03162.
24. Zhang, Y., I.D. McKelvie, R.W. Cattrall, and S.D. Kolev. Colorimetric detection based on localised surface plasmon resonance of gold nanoparticles: Merits, inherent shortcomings and future prospects. *Talanta*. 2016. 152, 410-422. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.02.015.
25. Kant, T., K. Shrivastava, and N.S. Dahariya. Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) of Nanomaterials for Colorimetric Detection: A Review. *Current Indian Science*. 2024. 2(1), e2210299X281976. DOI:10.2174/012210299X281976240527072849.
26. Kim, M.W., *et al.* Fabrication of a paper strip for facile and rapid detection of bovine viral diarrhoea virus via signal enhancement by copper polyhedral nanoshells. *RSC advances*. 2020. 10(50), 29759-29764. DOI: 10.1039/d0ra03677c.
27. Scherrer, S., P. Landolt, U. Friedel, and R. Stephan. Distribution and expression of esat-6 and cfp-10 in non-tuberculous mycobacteria isolated from lymph nodes of slaughtered cattle in Switzerland. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2019. 31(2), 217-221. DOI: 10.1177/1040638718824074.
28. Zhang, W., *et al.* Antigen 85B peptidomic analysis allows species-specific mycobacterial identification. *Clinical Proteomics*. 2018. 15(1), 1. DOI: 10.1186/s12014-017-9177-6.
29. Jenkins, A.O., *et al.* Cross reactive immune responses in cattle arising from exposure to *Mycobacterium bovis* and non-tuberculous mycobacteria. *Preventive Veterinary Medicine*. 2018. 152, 16-22. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2018.02.003.
30. Kumar, G., *et al.* Serodiagnostic efficacy of *Mycobacterium tuberculosis* 30/32-kDa mycolyl transferase complex, ESAT-6, and CFP-10 in patients with active tuberculosis. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*. 2010. 58(1), 57-65. DOI: 10.1007/s00005-009-0055-4.
31. Sun, J., *et al.* Diagnostic value of tuberculosis-Specific antigens Ag85B, ESAT-6 and CFP10 in pulmonary tuberculosis. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*. 2024. 37, 100486. DOI: 10.1016/j.jctube.2024.100486
32. Parakh, A., *et al.* Artificial Intelligence and Machine Learning for Colorimetric Detections: Techniques, Applications, and Future Prospects. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. 2025. e00280. DOI:10.1016/j.teac.2025.e00280.