

BERBAGAI METODE IMMUNOASSAY UNTUK DETEKSI AFLATOXIN B1 (AFB1)

Katherine Augustia Tjenggal¹, Imam Adi Wicaksono²

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang km 21 Sumedang 45363

²Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang km 21 Sumedang 45363

katherinetjenggal@gmail.com

Diserahkan 30/06/2019, diterima 01/08/2019

ABSTRAK

Aflatoxin merupakan metabolit bersifat racun berbahaya, aflatoxin ditemukan diberbagai bahan pangan, untuk aflatoxin B1 banyak ditemukan di bahan pangan tumbuhan dan bersifat karsinogenik apabila dikonsumsi oleh manusia. Paparan aflatoxin terhadap manusia tidak menimbulkan gejala spesifik yang mudah dideteksi. Sehingga diperlukan metode yang tepat untuk mendeteksinya. Banyak metode telah dikembangkan untuk mendeteksi metabolit ini. Salah satunya adalah immunoassay yang memiliki keuntungan lebih cepat, mudah, dan murah, dibandingkan dengan metode konvensional.

Kata kunci: aflatoxin, deteksi, immunoassay.

ABSTRACT

Aflatoxin is a dangerous toxic metabolite, aflatoxin is found in various foodproducts, aflatoxin B1 found in many plants, and have carcinogenic effect for humans who consume it. Aflatoxin exposure to humans does not cause any specific symptoms that could be easily detected. So the right method needed to detect it. Many methods have been developed to detect this metabolite. One of them is immunoassay which has a faster, easy, and cheaper advantage, compared to conventional methods.

Keywords: aflatoxin, detection, immunoassay.

PENDAHULUAN

Aflatoxin merupakan metabolit sekunder bersifat racun yang diproduksi oleh *Aspergillus flavus* dan *A. parasiticus*. Terdapat berbagai aflatoxin yang telah diteliti dan diketahui, salah satunya adalah aflatoxin B1 (AFB) yang masuk dalam agen karsinogenik grup I yang dibuat oleh Agen Internasional Penelitian pada Kanker (Lee, et al.,2004).

Secara metabolik, AFB akan diaktifkan oleh sitokrom P450 monooksigenase menjadi AFB1-8-9 epoksida yang merupakan hasil produk karsinogenik dan mutagenic. Selain itu, AFB1

juga dapat terhidroksilasi menjadi aflatoxin M1 yang bersifat kurang toksik apabila dibandingkan dengan AFB1, namun ketika sudah berubah menjadi aflatoxin M1 sifatnya akan berubah menjadi bentuk yang stabil meskipun sudah melalui proses pemanasan. Contohnya adalah pada produk susu yang tetap mengandung aflatoxin M1 meskipun susu sudah dipasteurisasi (J.C., 2013). Batas maksimum konsumsi AFB1 yang telah diizinkan oleh undang-undang komunitas Eropa adalah 1mg/kg, konsumsi lebih dari batas tersebut berpotensi menimbulkan aflatoksikosis dan bila dikonsumsi

20-120µg/kg bb perhari dapat menyebabkan kematian (WHO, 2018).

Sulitnya deteksi aflatoxin pada manusia dan hewan disebabkan oleh banyaknya gejala klinik yang timbul sehingga tidak spesifik dan faktor faktor lain seperti turunnya sistem imun akibat penyakit infeksi. Umumnya deteksi aflatoxin pada manusia menggunakan urin, namun hanya dapat terdeteksi 24 jam setelah paparan pertama. Cara lainnya adalah dengan menggunakan serum darah yang dapat mendeteksi setelah paparan lebih dari seminggu hingga bulanan (WHO, 2018).

Akibat sulitnya deteksi, dikembangkanlah banyak metode untuk mendeteksi metabolit ini (Li, et al., 2011). Suatu metode yang sensitif dan sederhana untuk mendeteksi kadar AFB1 karena jumlahnya yang relative rendah dan memiliki matriks yang kompleks. Untuk saat ini alat yang biasa digunakan adalah kromatografi konvensional, yaitu HPLC dan GLC (Cigic dan Helena, 2009), yang baru-baru ini digabungkan dengan spektrofotometer massa (Cavalier, et al., 2007), immunokromatografi (Ren, et al., 2014), strip uji aliran lateral (Anfossi, et al., 2013), ELISA (Li, et al., 2013), dan elektrokimia imunoanalisis (Tang, et al., 2009). Meskipun sensitif dan akurat, kebanyakan kromatografi membutuhkan alat yang mahal dan tahapan yang lebih banyak. *Immunoassay* memberikan keuntungan lebih banyak dibandingkan dengan kromatografi yaitu lebih cepat dan murah. Contoh pengembangan *immunoassay* adalah *magnetic-based* kolorimetri *immunoassay* (Wang, et.al., 2014), *photothermal immunoassay* (Li, et al., 2019), *nanobody and*

mimotope based immunoassay (Zhao, et al., 2018), dan *photoelectrochemical aptasensor* (Chen, et al., 2019).

Review ini bertujuan untuk membantu menentukan berbagai metode *immunoassay* yang cocok untuk identifikasi aflatoxin B1.

METODE

Metode pencarian sumber review dengan mencari melalui googlescholar.com dengan keywords "*immunoassay detection for aflatoxin B1*" hasil yang keluar sebanyak 23000 artikel, dibuka sebanyak 150 artikel dan dipilih dengan menggunakan system eksklusi inklusi. Kemudian dilakukan pencarian pada google.com dengan keyword "*aflatoxin b1 detection*" dan didapatkan satu buku, dan satu buah sumber dari website WHO yang membahas mengenai deteksi aflatoxin dan metode *immunoassay* aflatoxin B1.

Digunakan 34 sumber dengan rincian inklusi, artikel yang telah dipublish dan berhubungan dengan *immunoassay* sebanyak 31 artikel, website dengan pembahasan yang sama sebanyak satu website, dan dua buah buku dengan bahasan yang sama. Selain itu artikel yang masuk eksklusi sebanyak 118 sumber digunakan rincian artikel yang dipublish kurang sebelum tahun 2004 sebanyak 60 artikel, prosiding seminar sebanyak empat artikel, dan 54 lainnya yang tidak berhubungan dengan topik bahasan.

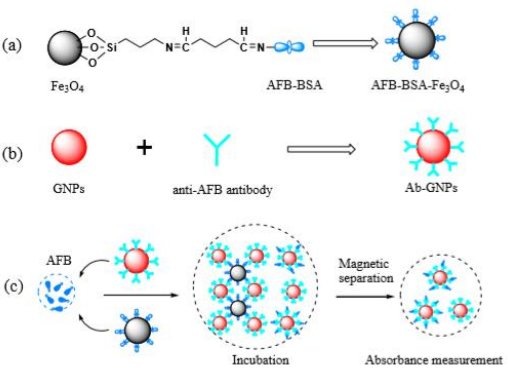
Artikel yang dipilih memiliki prinsip yang sederhana dan mudah dipahami yakni sebanyak 31 artikel, dua buku, dan satu website.

POKOK BAHASAN

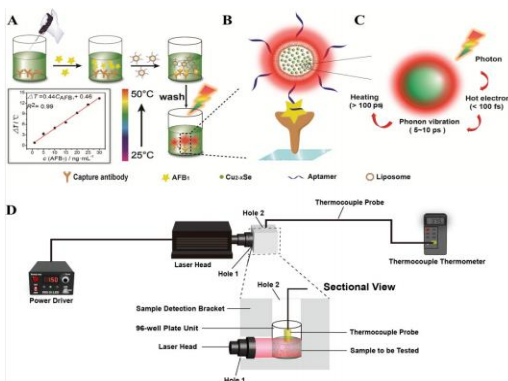
Pada **Tabel 1.** telah disatukan berbagai cara identifikasi aflatoxin B1 dengan berbagai

metode *immunoassay*. Prinsip secara sederhana dan kelebihan dibandingkan dengan metode lainnya.

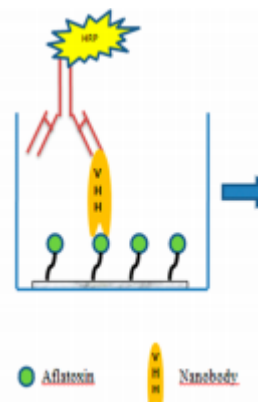
Tabel 1. Metode Deteksi Aflatoxin

No	Sumber	Cara Identifikasi	Prinsip	Kelebihan
1.	(Wang, et.al., 2014)	<i>Magnetic Bead-Based Colorimetric Immunoassay</i> untuk Aflatoxin B1 Menggunakan Nanoparticles Emas	 (a) Fe_3O_4 bead with AFB-BSA conjugate. (b) GNP + anti-AFB antibody. (c) Incubation and Absorbance measurement.	Sederhana, praktis, cepat, dan tidak ada syarat khusus penggunaan instrumen yang mahal dan sulit

Gambar 1. Prinsip *magnetic beads* dengan nanopartikel emas

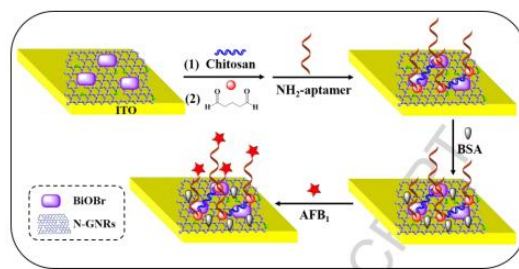
2.	(Li, et al., 2019)	<i>Photothermal Soft Nanoballs Developed by Loading Plasmonic Cu₂-xSe Nanocrystals into Liposomes for Photothermal Immunoassay of Aflatoxin B1</i>	 A: Schematic of the photothermal immunoassay. B: Schematic of the photothermal effect. C: Schematic of the photothermal effect. D: Schematic of the photothermal immunoassay setup.	Alat berupa thermometer mudah didapat
----	--------------------	---	--	---------------------------------------

Gambar 2. Prinsip Photothermal Softnanoballs

3.	(Zhao, et al., 2018)	<i>A novel nanobody and mimotope based immunoassay for rapid analysis of aflatoxin B1</i>	 A: Schematic of the immunoassay. B: Schematic of the immunoassay.	Cepat dan mudah digunakan
----	----------------------	---	---	---------------------------

Gambar 3. Prinsip Nanobody dan Mimotope (He, et al., 2014)

4. (Chen, et al., 2019) Fabrikasi fotoelektrokimia aptasensor untuk deteksi sensitif aflatoksin B1 dengan cahaya tampak yang digerakan oleh BiOBr/nitrogen-doped graphene nanoribbons



Gambar 4. Prinsip Photoelektrokimia Aptasensor

Mudah dilakukan, biaya rendah, dan sensitivitas tinggi

Menurut Wang, et al., ditahun 2014, kolorimetri memiliki banyak kelebihan, sederhana, praktis, cepat, dan instrumennya mudah didapat di laboratorium pada umumnya. Sementara *gold nanoparticles* (GNPs) digunakan dalam metode ini dikarenakan sifat fisik dan kimianya, seperti preparasi yang mudah, kesederhanaan modifikasi dan sifat katalitik yang unik (Jans & Huo, 2012). Sebagai contoh, GNPs akan berperan sebagai pembawa dan mengangkut biomolekul aktif seperti enzim dan DNAzyme buatan untuk amplifikasi sinyal yang dikatalisis oleh enzim (Lai, et al., 2014; Zhou, et al., 2009). GNPs dapat mengkatalisis dekomposisi pewarna organik seperti metil oranye (Li, et al., 2013) dan metilen biru (Li, et al., 2014) untuk menghasilkan sinyal kolorimetri. Meskipun sensitivitasnya tinggi, perlu ditingkatkan kompleksitasnya dengan cara mengembangkan warna-warna baru. Pengembangan uji ini untuk deteksi DNA menggunakan probe GNPs dan MB (*Magnetic beads*) untuk mengenali dan menangkap DNA target di mana solusi supernatan yang mengandung GNPs tidak terikat langsung diserahkan ke pengukur absorbansi (Jans, et al., 2011).

Pada penelitian Li, et al., 2019, memiliki prinsip dengan radiasi sinar, agen fototermal, atau struktur nano seperti PtSNBs (*photothermal soft nanoballs*) terdapat ketergantungan pada jumlah target melalui strategi pengikatnya, dapat mengubah cahaya yang diberikan menjadi panas melalui fototermal konversi cahaya ke panas. Jadi, ketika suhu dinaikkan, penggunaan termometer untuk mengukur suhu sebagai sinyal pembacaan untuk mengukur target dapat dilaksanakan (Zhang, et al., 2018).

PtSNBs dikembangkan untuk menciptakan efek *photothermal* dari Cu₂-xSe NCs yang dibungkus dengan liposom yang memiliki lapisan fosfolipid ganda dan dapat bertindak sebagai pembawa Cu₂-xSe NCs (Zhou, et al., 2015; Zhou, et al., 2013; Xing et al., 2016). PtSNBs, dimana aptamer target AFB1 dirakit dan dapat menginduksi amplifikasi sinyal karena tingginya kandungan reagen *photothermal* yakni Cu₂-xSe NCs, selektivitasnya tinggi karena terbentuk struktur antara aptamer pada permukaan PtSNBs dengan antibodi (He, et al., 2006; Zhang, et al., 2013; Liu, et al., 2009; Tang, et al., 2016). Setelah dicuci dengan larutan buffer dan direndam pada larutan substrat, struktur yang telah berikatan akan melepaskan panas yang

berasal dari PtSNBs yang ketika disinari dengan radiasi NIR mengkonversi cahaya ke panas. Peningkatan suhu akan berbanding lurus dengan kandungan target AFB1 yang akan dianalisis (Li, et al., 2019).

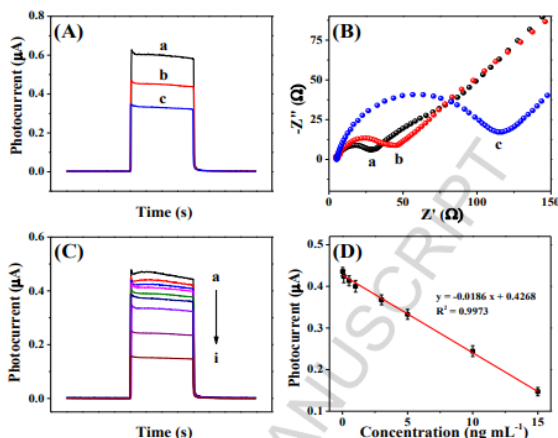
Zhao, et al., ditahun 2018 melakukan pengembangan ELISA kompetitif dengan MB-dcELISA (*magnetic bead-direct competitive ELISA*) untuk AFB1 berdasarkan nanobody aflatoxin dan mimotope peptidanya. Aflatoxin nanobody Nb28 digunakan sebagai *immunomagnetic beads* (He, et al., 2014). Mimotope peptide dari ME17 dipilih dan disintesis kemudian dipasangkan dengan HRP untuk membentuk HRP-labelled mimotope. ELISA kompetitif dibentuk pada Nb28 *Immunomagnetic beads* dan HRP-labelled *mimotope* (Zhao, et al., 2018).

Dalam pengembangan nanobody dan mimotop berbasis MB-dcELISA untuk AFB1, baik nanobody Nb28 dan mimotope ME17 diperoleh dengan teknologi *display fage*. Nanobody dengan urutan asam amino yang diketahui, lebih mudah dan lebih ekonomis untuk disiapkan dibandingkan dengan antibodi monoklonal. Mimotope dengan sekuens asam amino yang diketahui dapat diperoleh dalam jumlah besar melalui sintesis peptida komersial yang hemat biaya, dan mimotop dapat membuat *immunoassay* jauh lebih aman ketimbang menggunakan antigen toksik kemosintesis. MB-dcELISA memiliki keunggulan cepat, sederhana, dan menunjukkan hasil yang lebih baik dalam studi validasi. Semua dalam semua, kombinasi MB-ELISA dari nanobody dan mimotope memberikan ide baru untuk mendeteksi senyawa-

senyawa lainnya dengan berat molekul kecil (Zhao, et al., 2018).

Pada tahun 2019, Chen et al., mengembangkan suatu metode yang dinamakan *aptasensor photoelectrochemical* (PEC) selektif dan sensitif untuk deteksi AFB1 deteksi dalam sampel dibuat dengan memperkenalkan BiOBr / *nitrogen-doped graphene nanoribbons* (N-GNRs) sebagai antarmuka fotoaktif. BiOBr digunakan karena posisi pita energi yang tepat dan sifat fotokimia yang sangat baik (Li, et al., 2014). Namun kinerja fotokimia dari BiOBr sendiri masih dibatasi oleh tingkat rekombinasi yang tinggi dari adanya pasangan lubang elektron fotogenerasi (Di, et al., 2013). Didesainlah suatu kompleks hibrida berbasis BiOBr yang digabungkan dengan komponen fungsional lainnya yang memiliki mobilitas yang cepat. Diantaranya, nanoribbon graphene yang didoping nitrogen (N-GNRs), sebagai bahan karbon baru, telah banyak digunakan dalam oksigen reaksi reduksi (ORR) dan perangkat konversi / penyimpanan energi (Chen, et al., 2015). Dibandingkan dengan bahan karbon satu dimensi, N-GNR menunjukkan lebih banyak situs aktif kimia, transfer elektron yang lebih cepat, dan adanya peningkatan kinerja (Meng, et al., 2015). Selain itu, N-GNR memiliki tepi yang lebih lurus dan keteraturan permukaan yang lebih ideal daripada lembaran graphene acak (Higginbotham, et al., 2010). Dengan sifat baik, N-GNR dapat berfungsi sebagai pendukung yang menjanjikan untuk bahan nano, dan berlaku untuk

meningkatkan kinerja elektroda (Li, et al., 2015).



Gambar 5. Grafik PEC (Chen, et al., 2019)

PEC (*photoelectrochemical*) aptasensor yang khusus dibuat untuk deteksi AFB1 dengan menggunakan sinyal PEC stabil dari BiOBr / N-GNRs. **Gambar 5A** menunjukkan intensitas PEC dari proses pembuatan aptasensor PEC ‘sinyal mati’. Iradiasi cahaya BiOBr / N-GNRs / ITO (a) menunjukkan sinyal yang tinggi karena adanya peningkatan efisiensi pemisahan muatan. Namun intensitas PEC dari elektroda yang telah dimodifikasi dengan aptamer AFB1 (b) menurun karena adanya halangan sterik dari aptamer 38. Respon PEC menurun ketika aptasensor memiliki reaksi spesifik dengan AFB1 (c). hal ini menunjukkan bahwa perubahan pada permukaan elektroda akan menahan transportasi electron fotogenerasi (Chen, et al., 2019).

Pada **Gambar 5C** tersebut juga dapat dilihat bahwa seiring dengan peningkatan AFB1, sinyal PEC mengalami penurunan. Pada **Gambar 5D** terdapat kurva kalibrasi untuk baku AFB1 dengan konsentrasi sampel berkisar antara 5pg/ml – 15ng/ml, menghasilkan suatu persamaan regresi $I = 0.4268 - 0.0186 [C \text{ AFB1 (pg mL}^{-1})]$, dengan $R^2 = 0.9973$. Dari regresi dapat disimpulkan bahwa

pernyataan pada gambar 4C benar yakni peningkatan konsentrasi AFB1 akan diikuti dengan penurunan sinyal PEC (Chen, et al., 2019).

KESIMPULAN

Artikel review ini membahas mengenai berbagai metode *immunoassay* yang dapat dilakukan untuk deteksi aflatoxin B1, yaitu *magnetic-based* kolorimetri *immunoassay*, *photothermal immunoassay*, *nanobody and mimotope based immunoassay*, dan *photoelectrochemical* aptasensor. Keempatnya memiliki kelebihan lebih cepat dan mudah dibandingkan dengan metode ELISA umumnya atau dengan metode konvensional tanpa *immunoassay*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anfossi, L.; Baggiani, C.; Giovannoli, C.; Giraudi, G. 2013. *Aflatoxins-Recent Adv. Future Prospect*, volume 15. Croatia: InTech
- Cavaliere C, Foglia P, Guarino C, Nazzari M, Samperi R, Lagana` A (2007) Determination of aflatoxins in olive oil by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta*, 596; 141–148
- Chen, L., R. Du, J. Zhu, Y. Mao, C. Xue, N. Zhang, Y. Hou, J. Zhang, T. Yi. 2015. Three-dimensional nitrogen-doped graphene nanoribbons aerogel as a highly efficient catalyst for the oxygen reduction reaction. *Small*, 11(12); 1423-1429
- Cigic, Irena Klarj Cigic dan Helena Prosen. 2009. An Overview of Conventional and Emerging Analytical Methods for the Determination of Mycotoxins. *Int. J. Mol. Sci*, 10(1); 62-115
- Di, J., J. Xia, S. Yin, H. Xu, M. He, H. Li, L. Xu, Y. Jiang. 2013. A g-C₃N₄/BiOBr visible-light-driven composite: synthesis *via* a

- reactable ionic liquid and improved photocatalytic activity. *RSC Adv.* 3; 19624-19631
- He, T., Wang, Y., Li, P., Zhang, Q., Lei, J., Zhang, Z., Zhang, W. 2014. Nanobody-Based Enzyme Immunoassay for Aflatoxin in Agro-Products with High Tolerance to Cosolvent Methanol. *Analytical Chemistry*, 86(17), 8873–8880.
- He, Y.; Tian, Y.; Ribbe, A. E.; Mao, C. 2006. Antibody Nanoarrays with a Pitch of ~20 Nanometers. *J. Am. Chem. Soc.*, 128(39), 12664-12665.
- Higginbotham, A.L., D.V. Kosynkin, A. Sinitskii, Z. Sun. 2010. Lower-defect graphene oxide nanoribbons from multiwalled carbon nanotubes. *J.M. ACS Nano*, 4(4); 2059-2069
- J. C. Vidal, L. Bonel, A. Ezquerra, S. Hernandez, J. R. Bertolin, C. Cubel, J. R. Castillo. 2013. *Biosens. Bioelectron.* 49; 146.
- Jans, H. & Huo, Q. 2012. Gold nanoparticle-enabled biological and chemical detection and analysis. *Chem. Soc. Rev.*, 41, 2849–2866
- Jans, H.; Jans, K.; Demeyer, P.-J.; Knez, K.; Stakenborg, T.; Maes, G.; Lagae, L. A 2011. simple double-bead sandwich assay for protein detection in serum using UV–vis spectroscopy. *Talanta*, 83, 1580–1585
- D. Jiang, J. Du, Y. Chen, L. Zhou, W. Chen, Y. Q. Li, N. Hao, J. Qian, Q. Liu, K. Wang. 2016. ne-pot hydrothermal route to fabricate nitrogen doped graphene/Ag-TiO₂: Efficient charge separation, and high-performance "on-off-on" switch system based photoelectrochemical biosensing. *Biosens. Bioelectron.* 83; 149-155
- Lai, W.; Tang, D.; Zhuang, J.; Chen, G.; Yang, H.-H. 2014. Magnetic bead-based enzyme-chromogenic substrate system for ultrasensitive colorimetric immunoassay accompanying cascade reaction for enzymatic fotation of squaric acid-iron (III) chelate. *Anal. Chem.*, 86, 5061–5068
- Lee, N.A., Wang, S., Allan, R.D., Kennedy, I.R. 2004. A rapid aflatoxin B1 ELISA: Development and validation with reduced matrix effects for peanuts, corn, pistachio, and soybeans. *J. Agric. Food Chem*, 52(10), 2746–2755
- Li, D.; Ying, Y.; Wu, J.; Niessner, R.; Knopp, D. 2013. Comparison of monomeric and polymeric horseradish peroxidase as labels in competitive ELISA for small molecule detection. *Microchim. Acta*, 180, 711–717
- Li, Jia; Yu, Ying; Zhang, Lizhi. 2014. Bismuth oxyhalide nanomaterials: layered structures meet photocatalysis. *Nanoscale*, 6; 8473-8488
- Li, N., Ma, H., Cao, W., Wu, D., Yan, T., Du, B., & Wei, Q. 2015. Highly sensitive electrochemical immunosensor for the detection of alpha fetoprotein based on PdNi nanoparticles and N-doped graphene nanoribbons. *Biosens. Bioelectron*, 74, 786–791.
- Li P., Zhang Q., Zhang D., Guan D., Ding X., Liu X., Fang S., Wang X., Zhang W. 2011. *Aflatoxins: Detect., Measurement and Control*, Volume 11. Shanghai: InTech
- Li, X.; Yang, L.; Men, C. M.; Xie, Y. F.; Liu, J. J.; Zou, H. Y.; Li, Y. F.; Zhan, L.; and Huang, C. Z. 2019. Photothermal Soft Nanoballs Developed by Loading Plasmonic Cu₂-xSe Nanocrystals into Liposomes for Photothermal Immunoassay of Aflatoxin B1. *Anal. Chem.*, 91 (7); 4444–4450
- Li, W.; Li, J.; Qiang, W.; Xu, J.; Xu, D. 2013. Enzyme-free colorimetric bioassay based on gold nanoparticle-catalyzed dye decolorization. *Analyst*, 138, 760–766
- Li, W.; Qiang, W.; Li, J.; Li, H.; Dong, Y.; Zhao, Y.; Xu, D. 2014. Nanoparticle-catalyzed reductive bleaching for fabricating turn-off and enzyme-free amplified colorimetric bioassays. *Biosens. Bioelectron*, 51, 219–224
- Liu, J.; Cao, Z.; Lu, Y. 2009. Functional Nucleic Acid Sensors. *Chem. Rev.*, 109(5), 1948-1998.

- Meng, X., C. Yu, X. Song, Y. Liu S. Liang, Z. Liu, C. Hao, J. Qiu. 2015. Nitrogen-doped graphene nanoribbons with surface enriched active sites and enhanced performance for dye-sensitized solar cells. *Adv. Energy Mater.* 5(11);1-9
- Ren, M.; Xu, H.; Huang, X.; Kuang, M.; Xiong, Y.; Xu, H.; Xu, Y.; Chen, H.; Wang, A. 2014. Immunochromatographic assay for ultrasensitive detection of aflatoxin B1 in maize by highly luminescent quantum dot beads. *ACS Appl. Mat. Interf.*, 6; 14215–14222
- Tang, D.; Zhong, Z.; Niessner, R.; Knopp, D. 2009. Multifunctional magnetic bead-based electrochemical immunoassay for the detection of aflatoxin B1 in food. *Analyst*, 134, 1554–1560
- Tang, J.; Huang, Y.; Liu, H.; Zhang, C.; Tang, D. 2016. Novel glucometer-based immunosensing strategy suitable for complex systems with signal amplification using surfactant-responsive cargo release from glucose-encapsulated liposome nanocarriers. *Biosens. Bioelectron*, 79, 508-514.
- Wang, X., Reinhard Niessner, and Dietmar Knopp. 2014. Magnetic Bead-Based Colorimetric Immunoassay for Aflatoxin B1 Using Gold Nanoparticles. *Sensors*, 14, 21535-21548
- WHO. 2018. Aflatoxins. Tersedia online di https://www.who.int/foodsafety/FSDigest_Aflatoxins_EN.pdf [diakses pada tanggal 5 Mei 2019]
- Xing, H.; Zhang, C. L.; Ruan, G.; Zhang, J.; Hwang, K.; Lu, Y. 2016. Multimodal Detection of a Small Molecule Target Using Stimuli-Responsive Liposome Triggered by Aptamer-Enzyme Conjugate. *Anal. Chem.*, 88(3); 1506-1510.
- Zhang, H.; Li, F.; Dever, B.; Wang, C.; Li, X.-F.; Le, X. C. 2013. Assembling DNA through affinity binding to achieve ultrasensitive protein detection. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52(41), 10698-10705.
- Zhang, J.; Xing, H.; Lu, Y. 2018. Translating molecular detections into a simple Temperature test using a target-responsive smart thermometer. *Chem. Sci.*, 9, 3906-3910.
- Zhou, W.-H.; Zhu, C.-L.; Lu, C.-H.; Guo, X.; Chen, F.; Yang, H.-H.; Wang, X. 2009. Amplified detection of protein cancer biomarkers using DNzyme functionalized nanoprobe. *Chem. Commun.*, 6845–6847.
- Zhou, J.; Yang, Y.; Zhang, C. Y. 2015. Toward Biocompatible Semiconductor Quantum Dots: From Biosynthesis and Bioconjugation to Biomedical Application. *Chem. Rev.* 2015, 115(21); 11669-11717.
- Zhou, J.; Wang, Q. X.; Zhang, C. Y. 2013. Liposome–Quantum Dot Complexes Enable Multiplexed Detection of Attomolar DNAs without Target Amplification. *J. Am. Chem. Soc.*, 135(6); 2056-2059.