

國立台灣師範大學

光電科技研究所

碩士論文

Institute of Electro-Optical Science and
Technology

National Taiwan Normal University

單頻交流磁化儀之開發及肝癌生物標記檢測應用

The Development of AC Susceptometry and Its
Application on Detection of Liver Cancer Biomarker

指導教授:楊鴻昌 博士

廖書賢 博士

研究生:蘇裕凱

中華民國一〇三年七月

致謝

寫到這一篇致謝文也意味著畢業的日子到了!有一種如釋重負的感覺。回顧整整兩年的碩士生涯，實驗過程中痛苦掙扎的挫敗感已慢慢淡忘，實驗有所突破和進展的成就感卻更讓我印象深刻。我一直覺得如期完成論文是個艱難的任務，好幾次都差點放棄，但最後還是順利完成，這都要歸功於有一群貴人替我撐腰，陪著我到最後，在此致上最誠摯的感謝。

首先要感謝的是指導教授 **楊鴻昌**教授這兩年的細心指導，謝謝老師讓我站在他巨人的肩膀上看得更高更遠，對於實驗也給了我很多機會與空間讓我自由發揮，還不忘叮嚀維持實驗室的整潔，讓我在學術上和生活上都有不同以往的體驗和成長。此外我也要特別感謝**廖書賢**教授總是能夠在楊老師因繁忙而無暇幫助我們時，扮演一個大師兄的角色，為我們解決實驗上各種疑難雜症，以及**王立民**教授，在台大做實驗的這段日子，也把我們當成他的學生一樣的照顧，Meeting時也會給予許多建議，還有**洪姮娥**教授與**楊謝樂**教授，在實驗樣品和原理上也給我很大的幫助。

唸研究所的日子裡，實驗室就像第二個家，在這裡認識的人都是幫我成長的關鍵。所以我要感謝**俊言**學長，雖然我進入實驗室時你已經快要畢業了，但仍細心教導我關於實驗的一切，也為我未來兩年的實

驗打下基礎；感謝**信賢**學長在我剛開始接觸新系統時用心的指導，雖然你似乎不苟言笑，但相處過後就了解其實學長人非常好；感謝**坤麟**學長在我報告實驗進度時總能給我不同角度的看法，讓我有如醍醐灌頂；感謝**天璋**學長帶領我進楊老師的實驗室，沒有你就沒有我這兩年經歷過的一切；感謝**梓璋**學長經常幫助我們這些學弟們，也很樂意提供我們意見及幫助我們，還多陪伴我們半年時間；也很感謝其他學長姊們在我一進到這個大家庭時完全沒有適應不良的問題。

碩二的這兩年，也少不了同學和學弟的體諒跟幫忙，感謝**育綸**在一年級時就努力維護實驗室一樓的大小事務，讓我可以專注在實驗上，並在我寫碩論的時候給了我很多意見與協助；感謝**家豪**和**彥廷**除了忙碌於實驗外還處理行政事務，也幫我解決了很多寫程式相關的問題；感謝**偉倫**、**本原**、**逸群**能夠幫忙二年級處理一些雜務，讓**育綸**使喚、幫忙處理行政上的問題，也幫我跑腿買實驗所需材料。

在這兩年念研究所的過程中，雖辛苦但也還算順利，感謝一路上陪伴的女友和家人，也感謝幫助過我的學校老師、學長、同學、學弟、廠商還有金工廠，少了任何一個人的幫忙就沒有這篇論文，我要再說一次謝謝你們!!

摘要

有研究指出，肝癌患者體內的 AFP(甲胎蛋白)濃度較一般人來得高，藉由觀察體內 AFP 的濃度變化，便能判斷是否為罹患肝癌的高危險群，雖然無法以此當作絕對根據，但是我們可以當作參考並做更進一步的確認，達到及早發現及早治療的目標。

在這篇文章中，主要是架設一套單頻交流磁化率量測系統並以 SQUID(Superconducting Quantum Interference Device)作為感測器感應接收線圈(input coil)的磁通變化，搭配激發線圈、擷取線圈、補償線圈以及訊號產生器和鎖相放大器，由激發線圈產生一交流磁場，擷取線圈便會產生感應電流，由於擷取線圈為梯度線圈，感應電流會互相抵消，但無法 100% 抵消時再利用補償線圈降低剩餘訊號使背景值為 0.1 mV，放入樣品後值為 105 mV，訊雜比可達 1000。

量測樣品為 AFP 之抗體與磁性奈米粒子結合所形成具有磁性生物標記的磁性流體，隨著 AFP 之抗原與抗體的結合，磁性奈米粒子形成磁性叢集便會使相位延遲(Phase Lag)，AFP 抗原濃度愈高，磁性叢集愈大則相位延遲也就愈多。

關鍵字:交流磁化率

目錄

第一章 緒論.....	7
第二章 實驗原理	10
2-1 交流磁化率(AC susceptibility)量測原理	10
2-2 磁性標記免疫檢測原理	11
第三章 實驗架構	13
3-1 電磁波屏蔽桶(Electromagnetic Shielded Can).....	13
3-2 實驗線圈組	15
3-3 整體實驗架構.....	16
第四章 實驗結果及數據討論	19
4-1 梯度線圈之磁場平衡度(Balance).....	19
4-2 系統之穩定度(Stability)	22
4-3 SQUID 單頻交流磁化儀之測量過程	23
4-4 系統偵測不同濃度 AFP 之相位變化.....	24
4-5 單頻交流磁化儀之測量	37
4-5-1 單頻交流磁化儀系統介紹.....	37
4-5-2 單頻交流磁化儀偵測不同濃度 AFP 之相位變化.....	40
4-5-3 SQUID χ_{ac} 與 χ_{ac} 實驗結果比較.....	46
第五章 結論.....	48



第一章 緒論

人體的血液蛋白質組成成分十分複雜，但血液中許多微量蛋白質組成的變化，卻能作為健康狀況的指標，所以能有效且快速地鑑定出這些微量蛋白質的變化，就有助於疾病的早期診斷，並達到早期治療的目的。研究顯示甲胎蛋白(Alpha-fetoprotein,AFP)是由胎兒的肝臟分泌，一般是抽血來檢驗其在血中之濃度，正常值應小於 0.02ppm，不過有許多情況或疾病都有可能使 AFP 濃度升高，因此檢驗 AFP 在血液中的濃度並不具特別意義，我們也無法以此做為是否罹患肝癌的絕對根據，但可以用來做為評估或輔助診斷的工具，例如有超過 90% 的原發性肝癌患者 AFP 濃度會出現異常，68% 的患者其濃度會超過 0.1ppm，40% 的患者濃度會超過 10ppm，因此 AFP 濃度若超過 0.1ppm 時，要懷疑有罹患原發性肝癌的可能，提早做進一步的篩檢。

目前世界上所量測的磁性粒子叢集之磁性的方法包括磁鬆弛 (Magnetic Relaxation)[1]、殘磁量(Magnetic Remanence)[2]及混頻交流磁化率(Frequency Mixing ac Magnetic Susceptibility)[3]。可依臨床檢測便利性與精準性的需要，研發具不同特性之磁性免疫檢測系統以供應用。如磁鬆弛量測法不需加入標示計量劑及清洗分離程序，檢驗步驟相當簡易且快速，但又因磁鬆弛行為與磁性粒子大小有關，所以這類磁性免疫檢測過程中，必須使用高均勻度的奈米磁性粒子，以提升靈

敏度與正確性；殘磁量測法的優點為殘磁量測不受奈米磁性粒子均勻度的影響，因此穩定性佳；混頻交流磁化率量測法具有很大的動態範圍，可同時量測高濃度及低濃度之樣品。且待測生物分子是藉由生物探針直接與奈米磁性粒子（標記物）結合上，與傳統之生醫檢測法相較起來具有較簡便的檢驗程序。此外，待測生物體本身不具磁性，不會對檢測訊號產生干擾。

在此篇論文中我們主要是利用 AFP 抗體做為生物探針，將其披覆在磁性奈米粒子上形成 AFP 之磁性試劑，而 AFP 抗原為待測生物分子，藉由 AFP 抗體與抗原的結合會連帶使磁性奈米粒子與抗原聚集，聚集後磁性奈米粒子會變得較大較重而漸漸跟不上外加交流磁場的相位變化造成相位延遲(Phase Lag)，理論上若混合的溶液中有較多的待測生物分子，自然會有更多的磁性奈米粒子與之結合，使得相位延遲的角度更加明顯，因此我們可以嘗試用不同濃度的樣品量測，觀察相位延遲的變化。

目前已經有一套電子式單頻交流磁化儀，靈敏度約到 1 ppm，可能不足以應付 AFP 蛋白質的測量，因此我們架設了一套新系統，新系統使用的感測器為超導量子干涉元件(SQUID)，此元件可以量測到極微小的磁場變化，因此對於檢測更低濃度的樣品無疑是最適合的感測元件，雖然加上 SQUID 成本較高，但靈敏度提升便能提供更多種

類的樣品檢測，希望未來能更廣泛的應用在生醫檢測上。



第二章 實驗原理

2-1 交流磁化率(AC susceptometry)量測原理

一般而言，磁性奈米粒子的磁偶極的方向是不固定的，但當有外加磁場且為交流磁場時，磁偶極的方向會隨著此交流磁場，作來回週期性震盪，此即交流磁化率的物理源由。因外加磁場作用，使得內部磁矩偏向外加磁場方向且產生感應磁矩，量測其磁化強度(Magnetization)對應於該激發磁場的改變量，通常把磁化強度 M 再除以外加磁場強度 H ，即可導出交流磁化率(Alternative Current Magnetic Susceptometry, χ_{ac})。

$$\chi_{ac} = M_{ac}/H_{ac}$$

在此種檢測方法中，可量測樣品對此交流頻率的交流磁偶極矩，再求得 χ_{ac} 。如此即可量測出待測生物分子與 χ_{ac} 間的關係，當有愈多的待測生物分子加入磁流體時，就會有愈多的磁性奈米粒子與待測生物分子結合，就會剩下愈少的單獨磁性奈米粒子，這將使得交流磁化率 χ_{ac} 之大小值降低[17]。

2-2 磁性標記免疫檢測原理

磁性標記免疫檢測(Magnetically Labeled Immunoassay,MLI)的原理是利用分散在水中披覆有生物探針(Bioprobe)的磁性奈米粒子與待測生物分子(Biotarget)結合成磁性叢集(Magnetic cluster)後，再藉由量測這些磁叢集的磁性大小測待測抗體含量的檢測方式[5-9]。

至於生物探針方面我們的選擇是使用與待測生物分子具有高專一性及強力結合性的抗體或抗原。以檢測 avidin 為例，如圖 2-2-1 所示[10]，我們可以選擇以抗原 biotin 為生物探針，然後藉由化學反應將 biotin 披覆在 Fe_3O_4 磁性奈米粒子之介面活性劑上。這些磁性奈米粒子將有一部份會藉由 biotin 與 avidin 相結合而形成磁性粒子叢集(Magnetic cluster)[11-12]。再藉由量測磁性粒子叢集之各種磁特性，即可定量地量測出待測樣品中 avidin 的含量[13-15]。

目前用來量測磁性粒子叢集之磁性的方法包括磁鬆弛(Magnetic relaxation)、磁殘量(Magnetic remanence)及混頻交流磁化率 χ_{ac} 法(Frequency mixed ac magnetic susceptibility)。在此實驗中我們使用單頻交流磁化率 χ_{ac} 法來量測與待測生物分子結合之磁性奈米粒子的磁訊號。

如上述，當加入一待測生物分子於已披覆有生物探針(bioprobe)的奈米磁性粒子，則部份的奈米磁性粒子會因為待測生物分子(biotarget)

與生物探針(bioprobe)專一且強力的結合而形成磁性粒子叢集 (Magnetic cluster)。首先我們先定義：交流磁化率 $\chi_{ac} = M_{ac}/H_{ac}$ ，即在外加磁場下 H_{ac} 與樣品(含有磁性的物質)對應到的磁化強度 M_{ac} 之比值，且其對應到之磁化訊號的頻率與外加磁場的頻率相同。因此，將含有待測生物分子之磁性流體放置在固定頻率的交流磁場下，待測生物分子的磁性奈米粒子對外加固定頻率的交流磁場就會產生一交流磁化率 χ_{ac} (ac magnetic susceptibility)。在此種檢測方法中，可量測樣品對此交流頻率的交流磁偶極矩，再求得 χ_{ac} 。如此即可量測出待測生物分子與 χ_{ac} 間的關係。當有越多的待測生物分子加入磁流體時，會有越多的磁性奈米粒子與待測生物分子結合就會剩下越少的單獨磁性奈米粒子，這將使得交流磁化率 χ_{ac} 之大小值降低[16]。

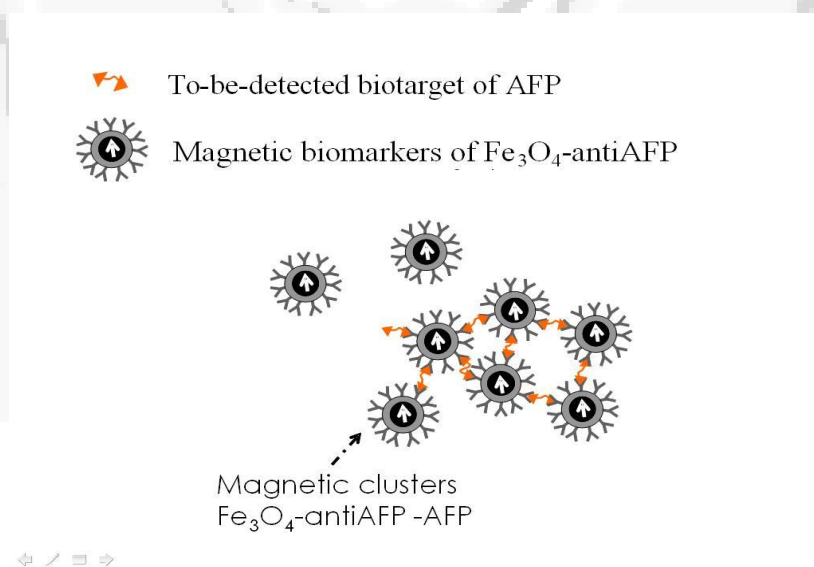


圖 2-2-1 披覆著 biotin 探針的奈米磁性粒子跟標的物 avidin 在水中聚集結合的情形

第三章 實驗架構

在此實驗中，我們需要先製作一個電磁波屏蔽桶來隔絕外界雜訊對實驗系統的干擾。此外，在此實驗中我們使用單頻交流磁化率法，並外加一補償線圈來消除背景之雜訊值，以得到更乾淨之樣品訊號。

3-1 電磁波屏蔽桶(Electromagnetic Shielded Can)

電磁波屏蔽桶的功能主要是能夠隔絕外界的磁場雜訊，在量測磁性標記交流磁化率實驗上，電磁波屏蔽桶扮演相當重要角色，我們所使用的材料主要是由高導電率材質(鋁桶)組成。其構造如圖 3-1-1、圖 3-1-2、圖 3-1-3 所示，在此實驗中我們所建造之屏蔽桶為三層結構，每一層為厚度 2mm 的鋁桶所構成。



圖 3-1-1 三層電磁波屏蔽桶



圖 3-1-2 中間為線圈架構

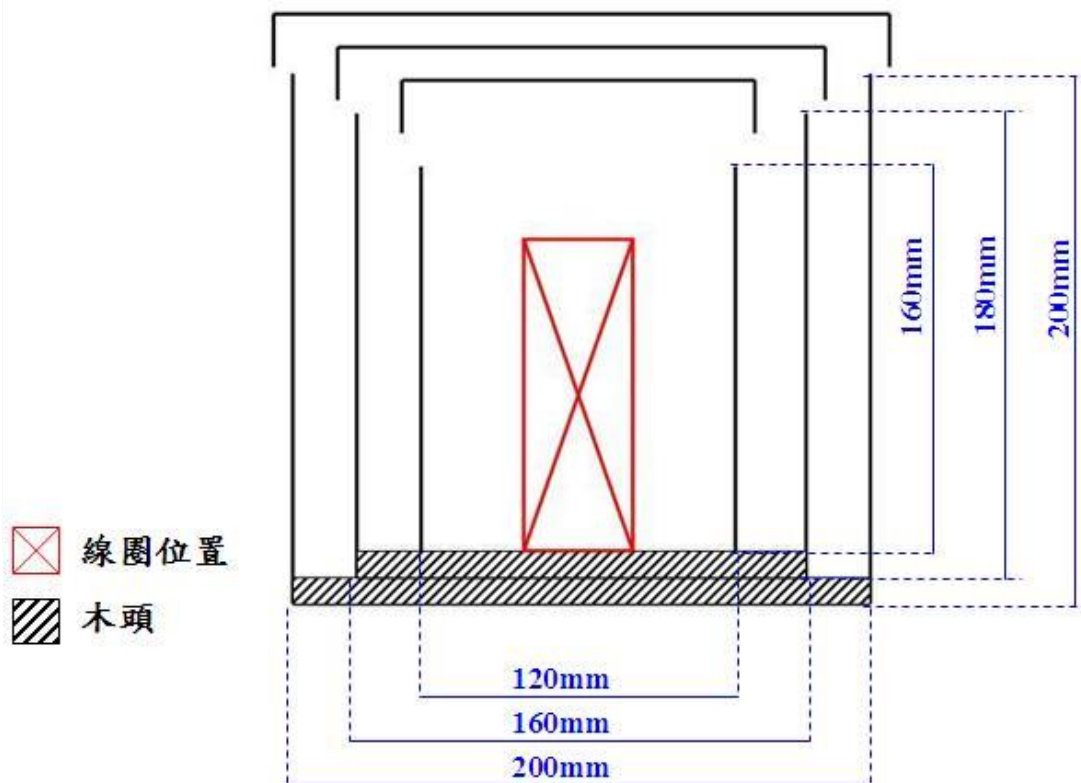


圖 3-1-3 屏蔽桶尺寸圖

3-2 實驗線圈組

此實驗系統線圈組可分為三部分，一部分為用來產生交流磁場的激發線圈(Excitation coil)；另一部分則是用來擷取交流磁化訊號的擷取線圈；最後是補償背景磁場用的補償線圈。激發線圈的架子是由塑鋼材料加工而成，其外圍經銅線纏繞，即成激發線圈。擷取線圈是利用塑鋼材料製作其支架，再以銅線繞製而成，整體線圈如圖 3-2-2，管體可分為上下兩段，銅線在上下兩段纏繞的方向是相反的，主要目的在於盡可能地消除由激發線圈所產生的交流磁場對擷取線圈輸出訊號的影響。激發線圈直接套入擷取線圈，與擷取線圈同軸，最外側再繞上補償線圈，其相對位置如圖 3-2-1。

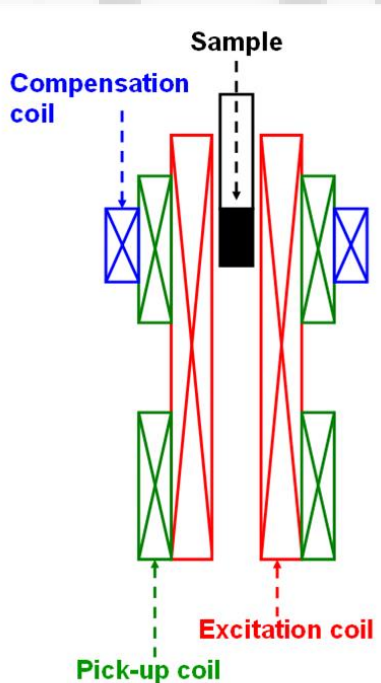


圖 3-2-1 線圈相對位置

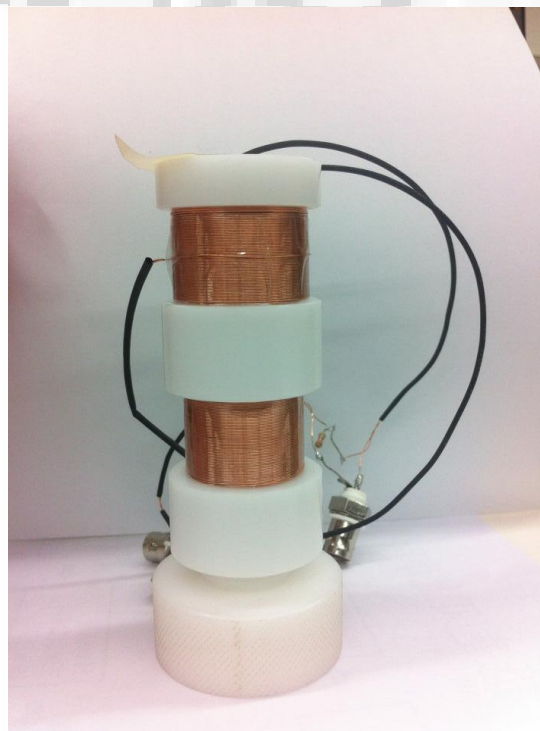


圖 3-2-2 線圈架構實體圖

3-3 整體實驗架構

圖 3-3 為整體實驗架構圖，由於本實驗是使用 SQUID 單頻交流磁化率 χ_{ac} 測量法，即在單一頻率下測量樣品之磁訊號，所以在開始測量樣品之前，我們必須先校正此單一頻率所產生之背景值，當然是越小越好，如圖 3-4 (a)。其方法為利用外加一補償線圈，並外加一同頻率之電壓源，調整輸入其電壓大小及相位來控制此補償線圈所產生之磁場來消除背景值。

實驗校正的步驟如下：

- (1) 首先我們需要一台雙 Channel 或者兩台單 Channel 的函數產生器 (Function generator) 可以同時給出兩個電壓及相位之訊號 CH_1 及 CH_2 。 CH_2 為激發線圈 (Excitation coil) 之電壓訊號源， CH_1 為補償線圈之電壓訊號源。
- (2) 將 CH_1 和 CH_2 設定為同頻率且同時發送訊號 (Timebase) 後，先觀察單獨發送 CH_2 訊號時，擷取線圈 (Pick-up coil) 將所接收到之背景訊號傳送到 Input coil, Input coil 產生磁場使 SQUID 感應到磁場轉換成電壓訊號再藉由 PCI-100 到濾波器過濾雜訊，最後才傳到鎖相放大器，再將鎖相放大器量得該頻率之訊號傳送至電腦就可得到背景值。
- (3) 同時微調 CH_1 的電壓與相位 (phase) 的大小，藉由此些微的調整 CH_1

訊號之電壓振幅值與相位，將原本之背景大幅抵銷降到最低值。

完成此校正手續之後，才會將待測樣品置於 SQUID 單頻交流磁化儀之中，擷取線圈(Pick-up coil)將擷取到的樣品訊號經由 SQUID 讀取後由鎖相放大器(Lock-in Amplifier)接收數據並分析。

此校正原理為當擷取線圈擷取到背景磁場訊號（令之為 $B_1 = a \cdot \sin(\omega t + \theta)$ ）以及樣品訊號（ $B_1' = b \cdot \sin(\omega t + \theta)$ ），而此時我們只要藉由補償線圈送出一大小相同方向相反之磁場訊號 $B_2 = - a \cdot \sin(\omega t + \theta)$ ，就可將背景磁場訊號 B_1 抵消。此時再放入樣品，就可得到更乾淨之樣品訊號，將外界環境雜訊之影響降低。

樣品開始測量後，擷取線圈量測到樣品訊號會傳到 Input coil，所以 Input coil 產生的磁場會因為樣品訊號變化而變化，SQUID 便會讀取到磁通變化，轉換成電壓訊號先輸入到濾波器，濾波器設定在 9K Hz 到 9.01K Hz，把雜訊濾掉後鎖相放大器便能讀取最純粹的樣品訊號。

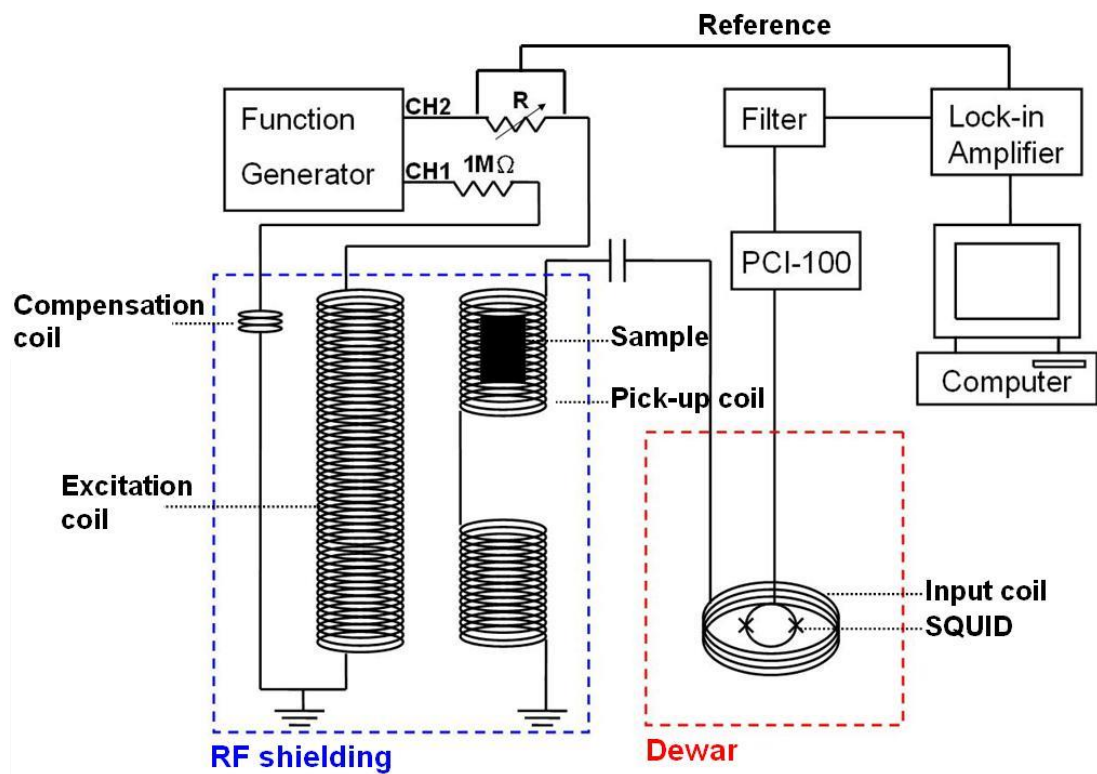


圖 3-3 整體實驗架構圖

第四章 實驗結果及數據討論

4-1 梯度線圈之磁場平衡度(Balance)

由於我們設計之擷取線圈(Pick-up coil)為梯度形式，就是上下半部線圈所繞的方向相反，磁場方向相反即抵消磁場，其目的就是抵消梯度線圈內激發線圈(Excitation coil)對樣品之影響，進而讓擷取線圈得到單純樣品之訊號。並且有別於其他傳統的設計，我們將擷取線圈置於激發線圈的外部而有利於做平衡度的微調。

首先先將擷取線圈調整到梯度線圈相互抵消最好的位置，並給激發線圈訊號產生一交流磁場，圖 4-1-1 為梯度線圈產生的訊號相互抵消後，SQUID 所測量到的值為 0.012 V。

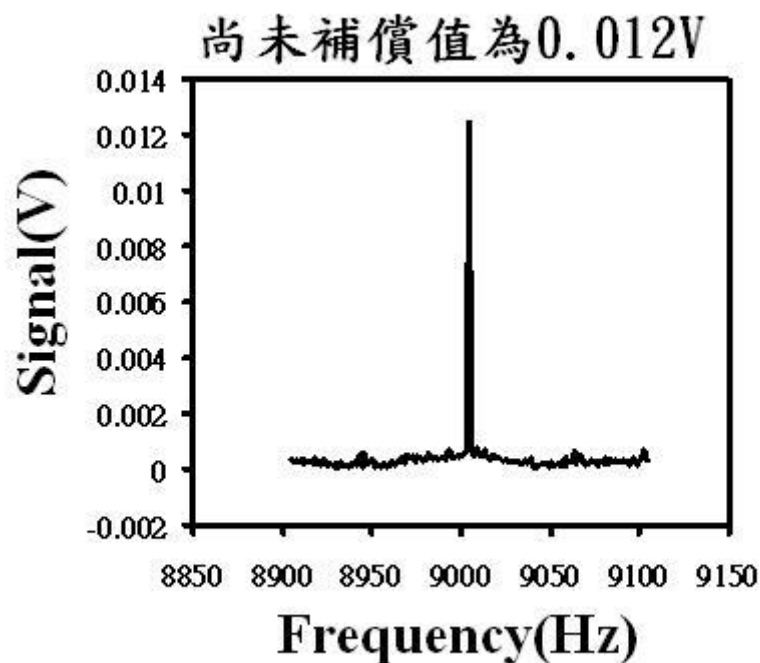


圖 4-1-1 梯度線圈互相抵消

為了取得更好的平衡度，我們在擷取線圈外部再加上一補償線圈串聯一個 $1\text{M}\Omega$ 電阻以供作微調，磁場補償後可將訊號值大幅降至 0.0001V ，如圖 4-1-2 所示。

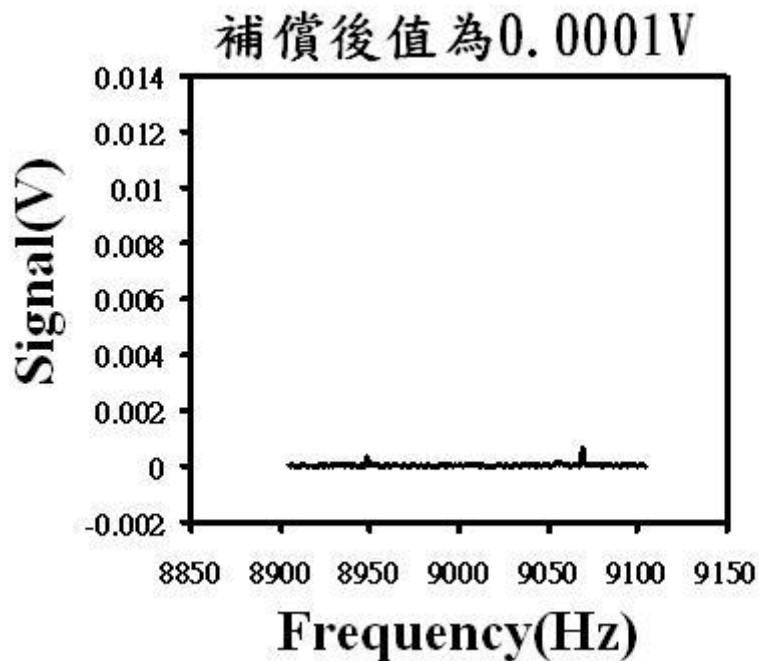


圖 4-1-2 補償線圈將背景降低

本系統還沒放入樣品情況下，SQUID 讀取到的背景訊號值為 0.0001V ，一開始我們測量在沒有樣品的情況下，量測系統的背景訊號值，接著將磁流體 MF (coated Anti-AFP) 體積 $40\ \mu\text{L}$ ，緩衝液 (Buffer) 體積 $60\ \mu\text{L}$ 混合後放入系統量測，訊號值為 0.105V ，如圖 4-1-3 所示。

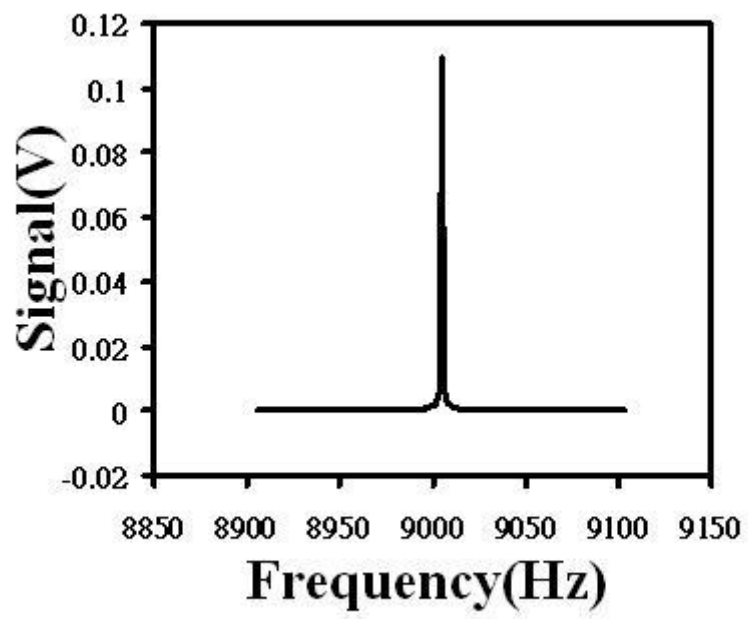


圖 4-1-3 樣品放入系統後之訊號

4-2 系統之穩定度(stability)

為了確保測量樣品過程中，不會受外界其他因素干擾或是因本身系統之不穩定度而影響測量樣品，我們連續測量兩個小時沒有置放樣品，單純背景環境之訊號如圖，可以得到其平均值為 0.1 ± 0.03 (mV)。

其中橫軸為連續測量時間，單位為秒(sec)；縱軸為訊號強度，單位為 mV。從圖 4-2 可得知系統經過長時間測量之後，雖然會因實驗室環境雜訊或人員走動干擾，但單純背景環境之訊號都還保持在 0.1mV 上下。

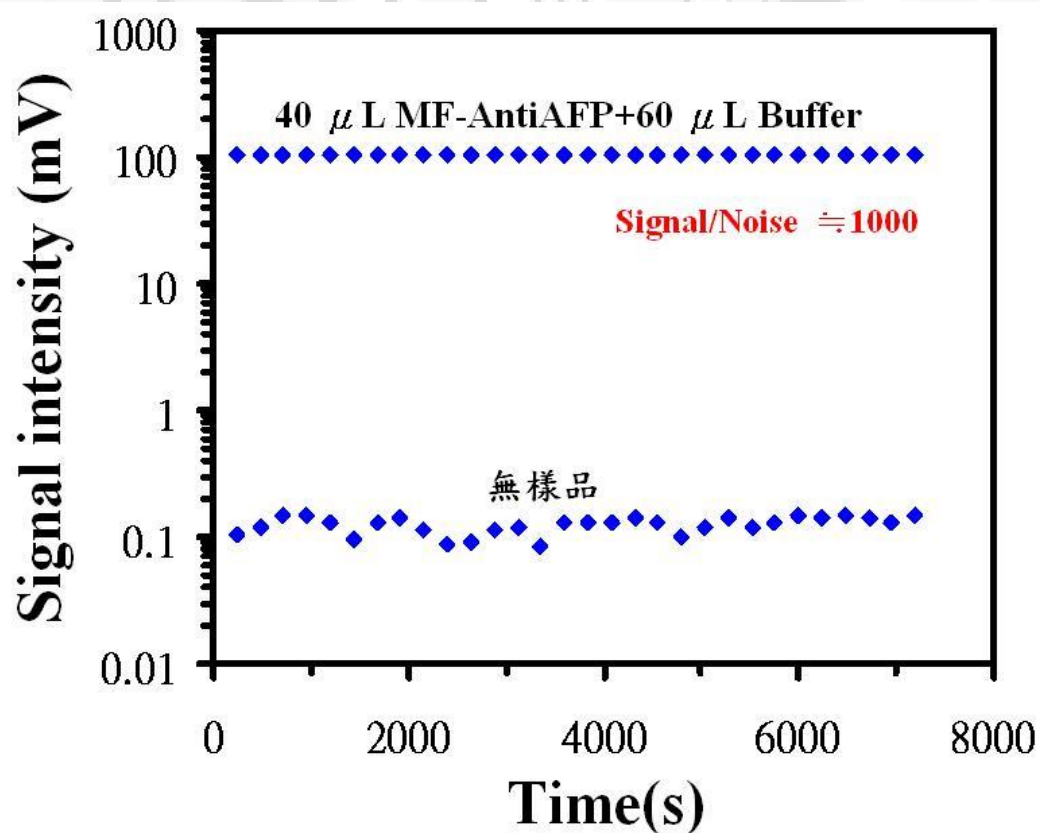


圖 4-2 放置樣品之訊號值與系統背景值

4-3 SQUID 單頻交流磁化率之量測過程

此系統最大的突破就是感測器使用超導量子干涉元件，因此實驗中 SQUID 是否能持續讀取訊號是很重要的，利用程式搭配數據採集卡讓 SQUID 固定時間 Reset 一次，保持 SQUID 穩定讀取訊號。

由於此實驗是 SQUID 單頻交流磁化率，因此實驗過程中激發線圈和補償線圈是使用相同的頻率，我選擇 9K Hz 為我們實驗的頻率，不過環境中充斥著 60 Hz 的雜訊，因此實驗頻率的選擇上必須避免使用 60 Hz 和 60 Hz 的倍數，所以實際的實驗頻率為 9005 Hz。

另外為了避免溫度影響到磁流體與 AFP 蛋白質溶液的量測過程，造成訊號不穩或者是飄動，在進行實驗前，會分別利用微量分注器將磁性試劑和 AFP 蛋白質溶液從冰箱試管中抽出，並置於室溫約 10 分鐘回溫，在這之前要先確定系統在量測開始時環境皆為穩定的狀態，所以在放置樣品測量前，會先量測系統在半小時內的系統穩定度，確認系統穩定後，再將裝有 AFP 蛋白質溶液之試管利用微量分注器取出 60 μ L，打入裝有 MF(coated Anti-AFP) 40 μ L 的同一試管並且使用震盪器均勻混合之後，再放入實驗的系統中，量測 120 分鐘，觀察 MF(coated Anti-AFP) 和 AFP 蛋白質溶液的結合情況。

4-4 系統偵測不同濃度 AFP 之相位變化

在本實驗我們使用濃度為 0.3 emu/g 的 MF (coated Anti-AFP)，我們藉由不斷的稀釋 AFP 試劑的濃度，來觀察此實驗架構的磁性奈米粒子與不同濃度之 AFP 蛋白質結合後訊號的變化與反應。

與 4-3 章的量測方法相同，我們 MF (coated Anti-AFP) 皆使用 40 μL ，AFP 蛋白質溶液使用 60 μL ，回溫後混合並使用震盪機震盪，觀察相位的變化，我們嘗試了十種不同的濃度，每一種濃度實驗兩到三次，才能藉由重複性確認數據的可信度，首先定義如何判斷相位延遲的角度如圖 4-4-1，接著嘗試加入 5 ppm 的 AFP 蛋白質溶液，實驗的結果如圖 4-4-2；再來實驗 AFP 試劑濃度 1 ppm 得到相位的變化如圖 4-4-3；然後是 AFP 試劑濃度 0.5 ppm 得到相位的變化如圖 4-4-4；AFP 試劑濃度 0.1 ppm 得到相位的變化如圖 4-4-5；AFP 試劑濃度 0.05 ppm 得到相位的變化如圖 4-4-6；AFP 試劑濃度 0.02 ppm 得到相位的變化如圖 4-4-7；AFP 試劑濃度 0.01 ppm 得到相位的變化如圖 4-4-8；AFP 試劑濃度 0.005 ppm 得到相位的變化如圖 4-4-9；AFP 試劑濃度 0.001 ppm 得到相位的變化如圖 4-4-10；AFP 試劑濃度 0 ppm 得到相位的變化如圖 4-4-11。

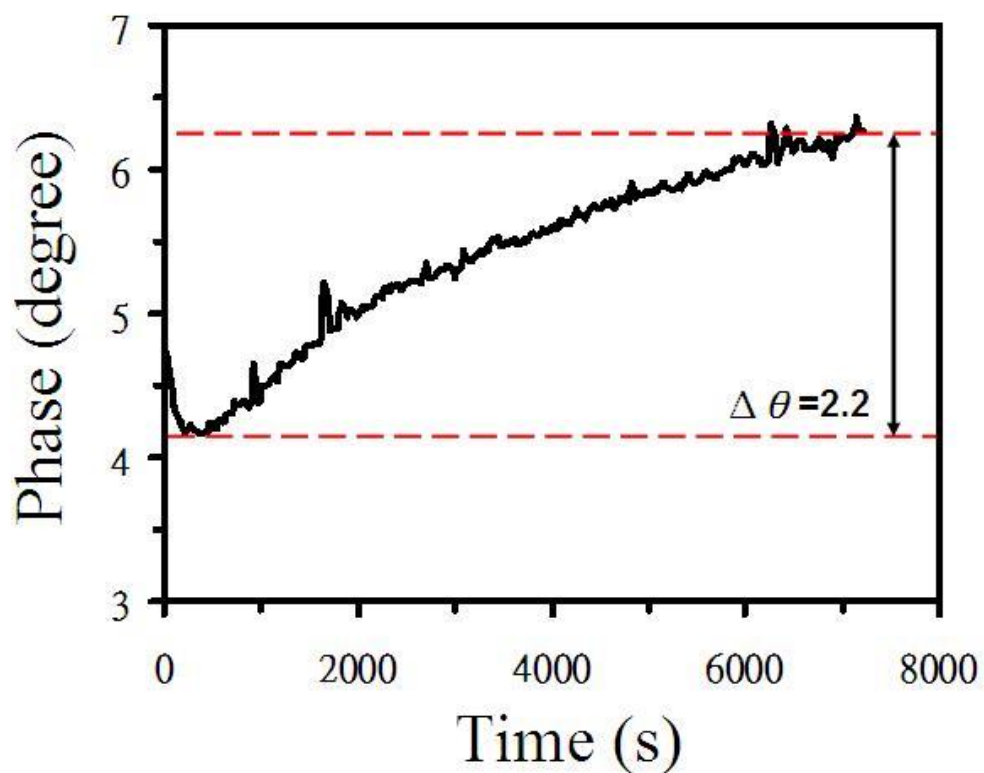


圖 4-4-1 定義相位延遲的取法

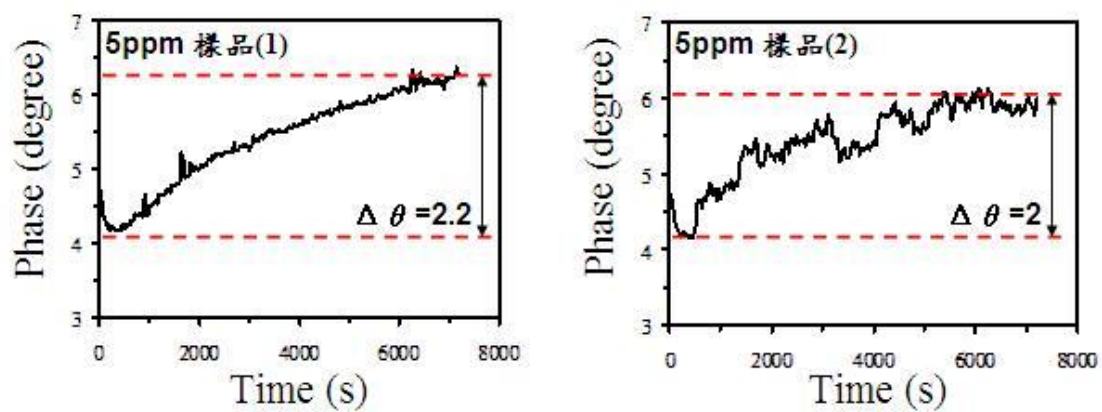


圖 4-4-2 SQUID χ_{ac} 量測 5ppm AFP 蛋白質的數據

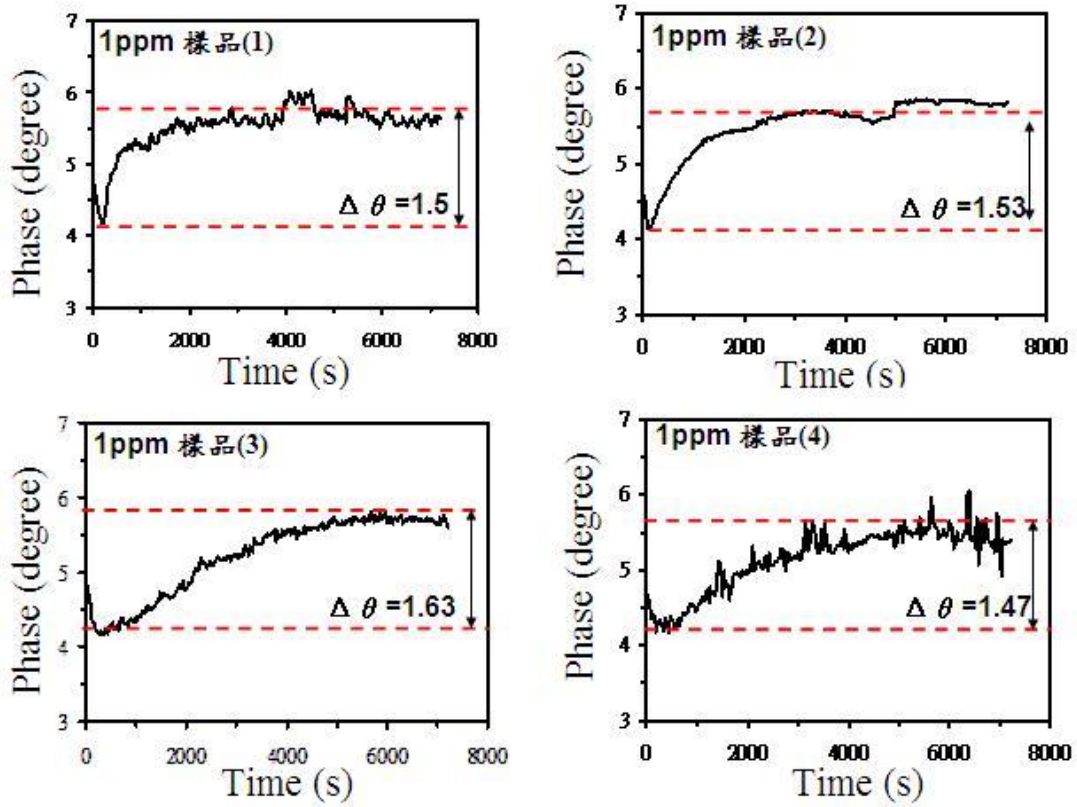


圖 4-4-3 SQUID χ_{ac} 量測 1ppm AFP 蛋白質的數據

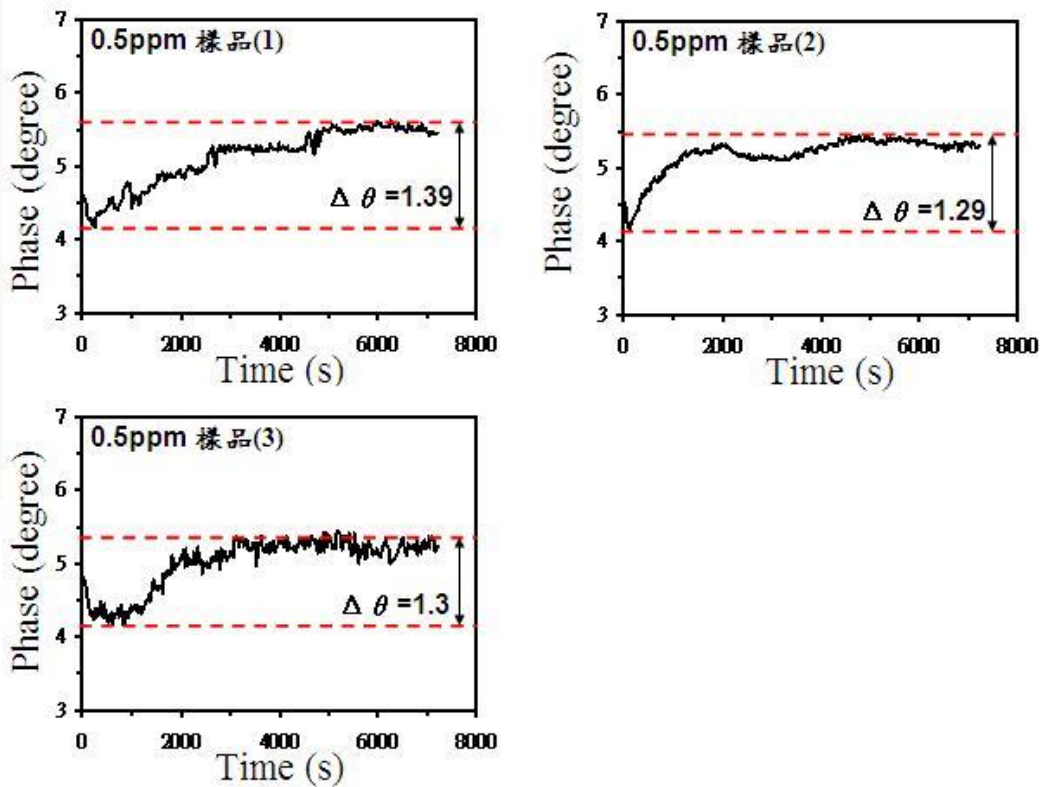


圖 4-4-4 SQUID χ_{ac} 量測 0.5ppm AFP 蛋白質的數據

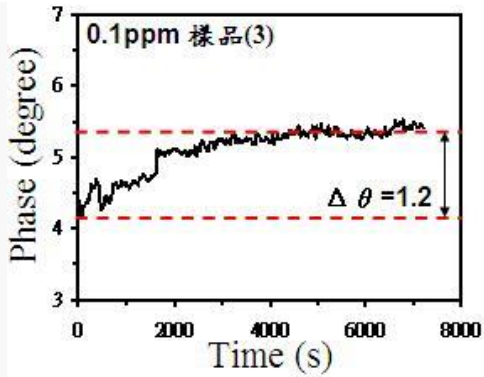
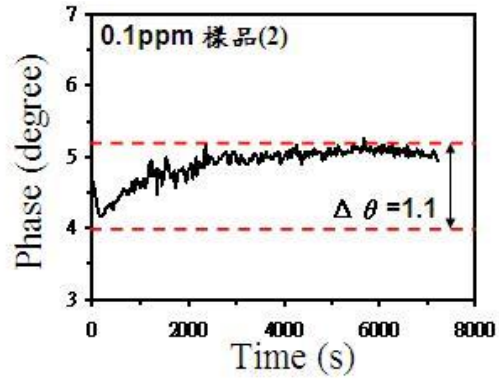
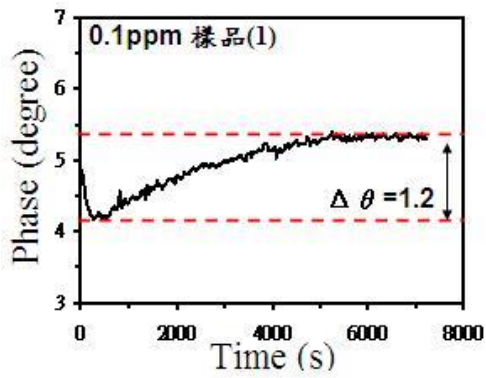


圖 4-4-5 SQUID χ_{ac} 量測 0.1ppm AFP 蛋白質的數據

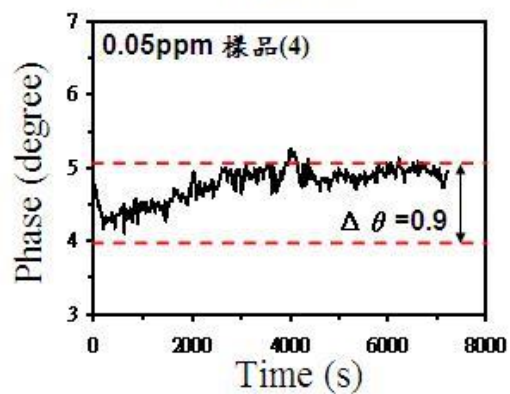
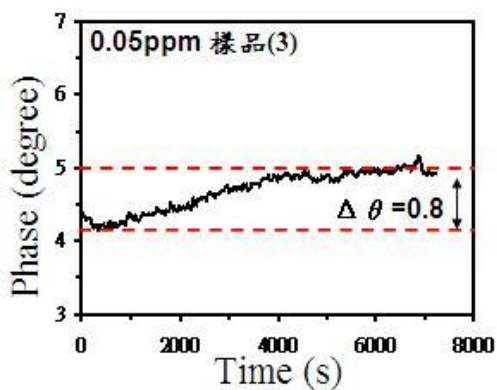
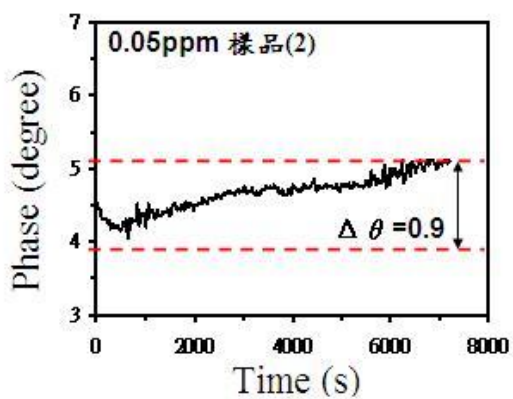
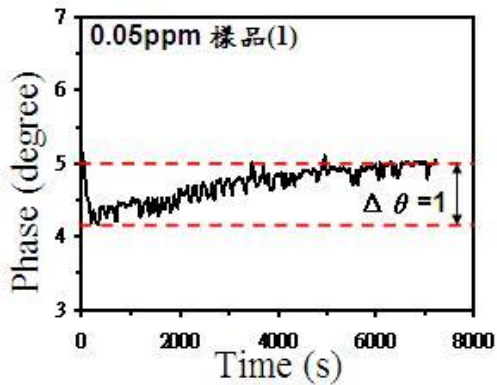


圖 4-4-6 SQUID χ_{ac} 量測 0.05ppm AFP 蛋白質的數據

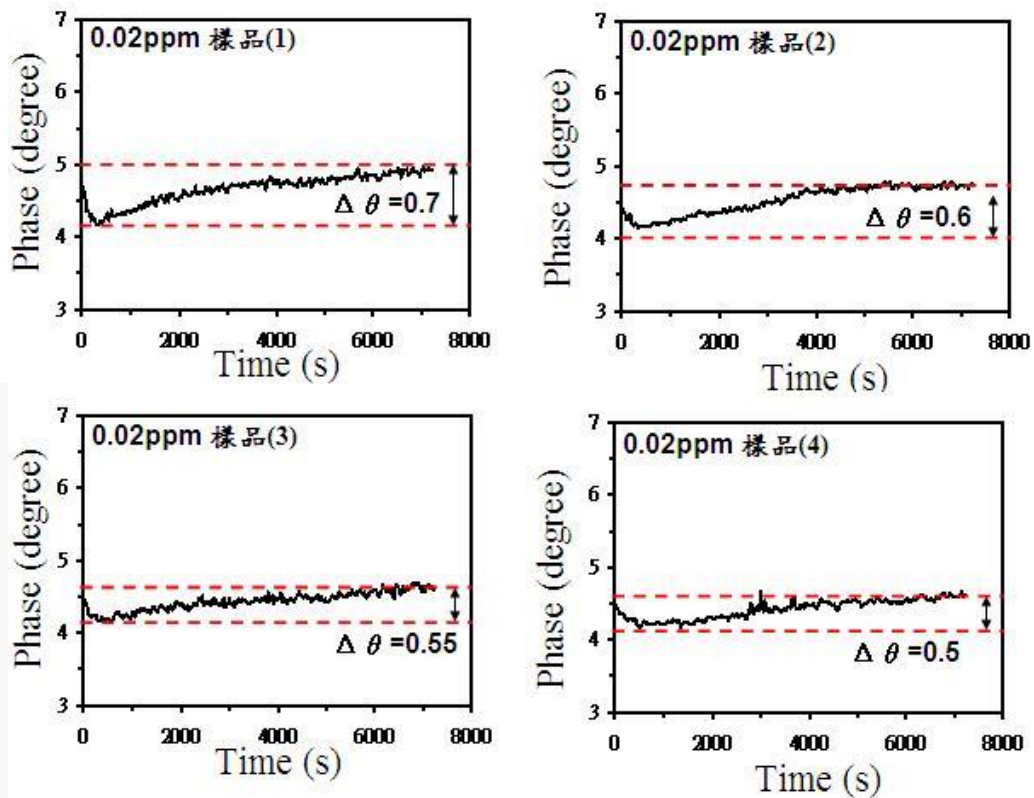


圖 4-4-7 SQUID χ_{ac} 量測 0.02ppm AFP 蛋白質的數據

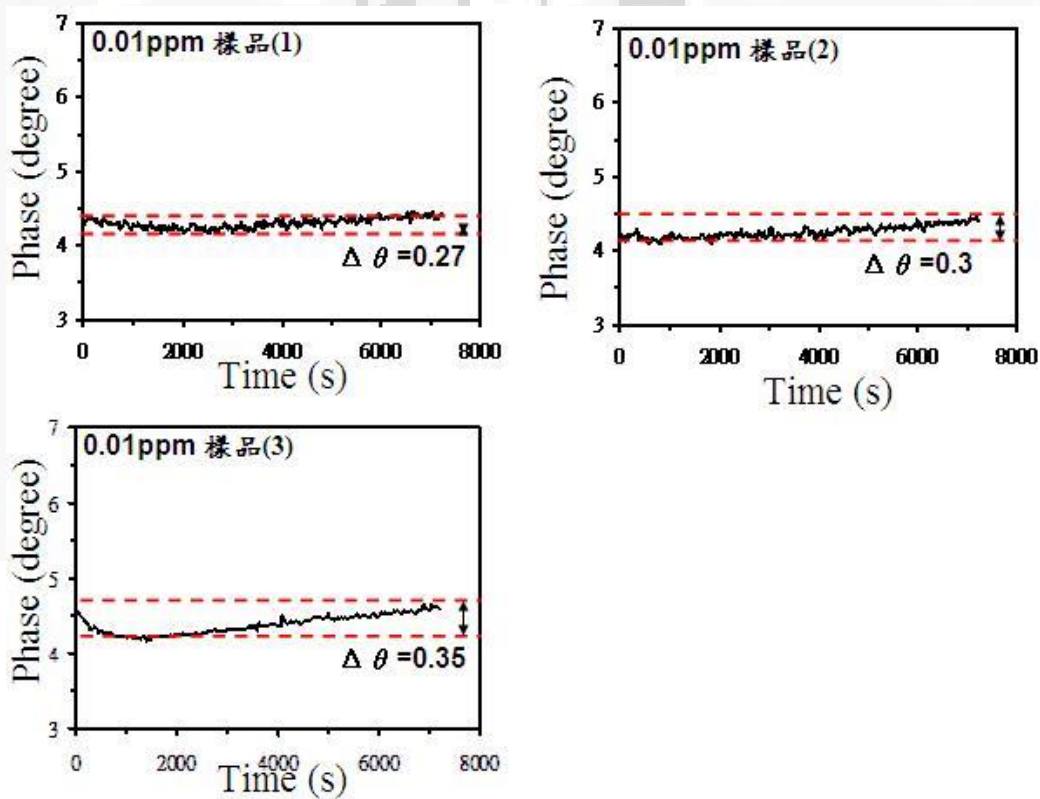


圖 4-4-8 SQUID χ_{ac} 量測 0.01ppm AFP 蛋白質的數據

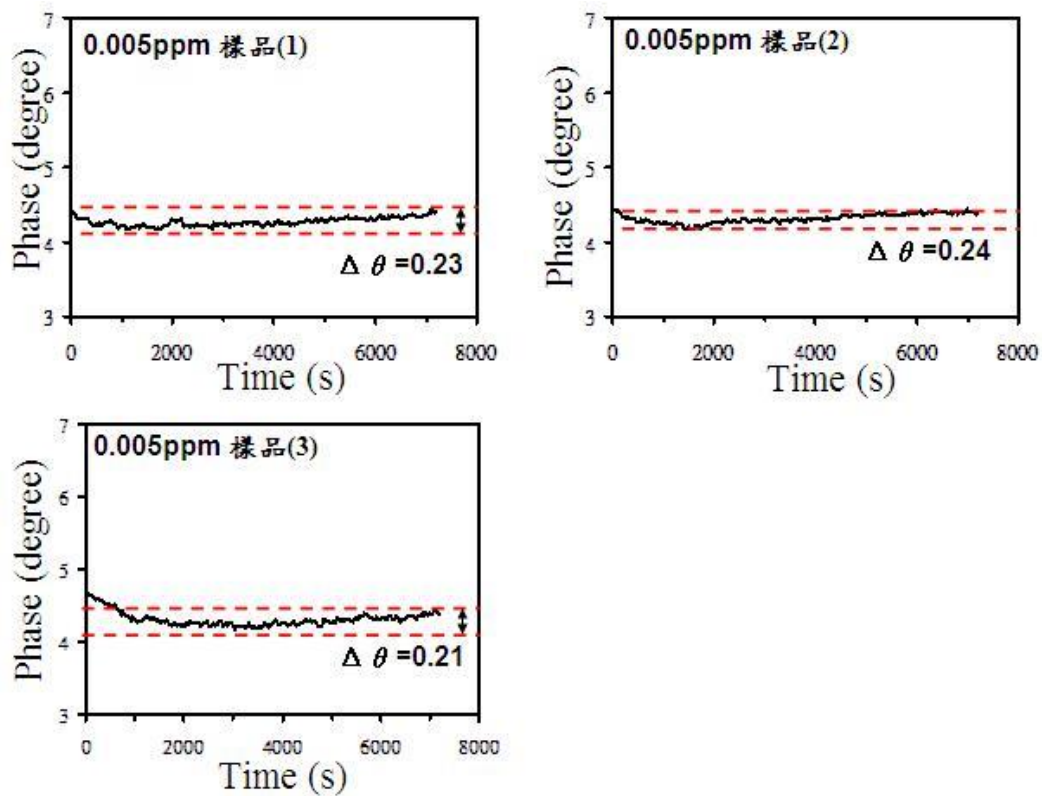


圖 4-4-9 SQUID χ_{ac} 量測 0.005ppm AFP 蛋白質的數據

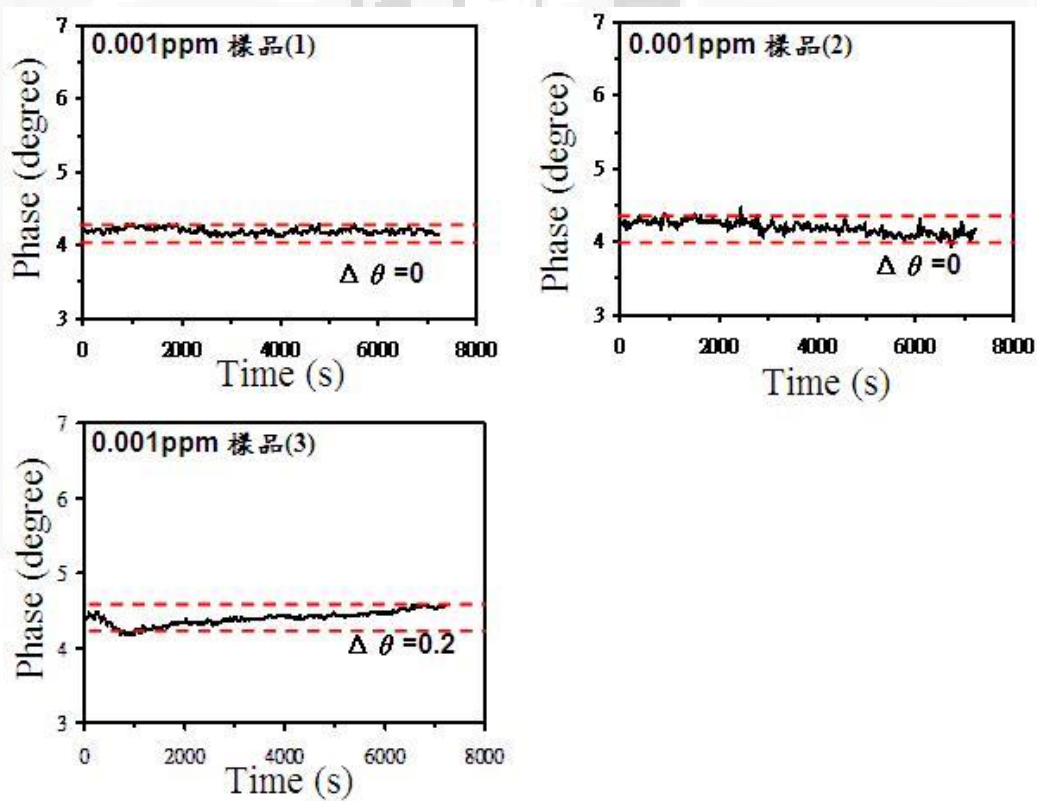


圖 4-4-10 SQUID χ_{ac} 量測 0.001ppm AFP 蛋白質的數據

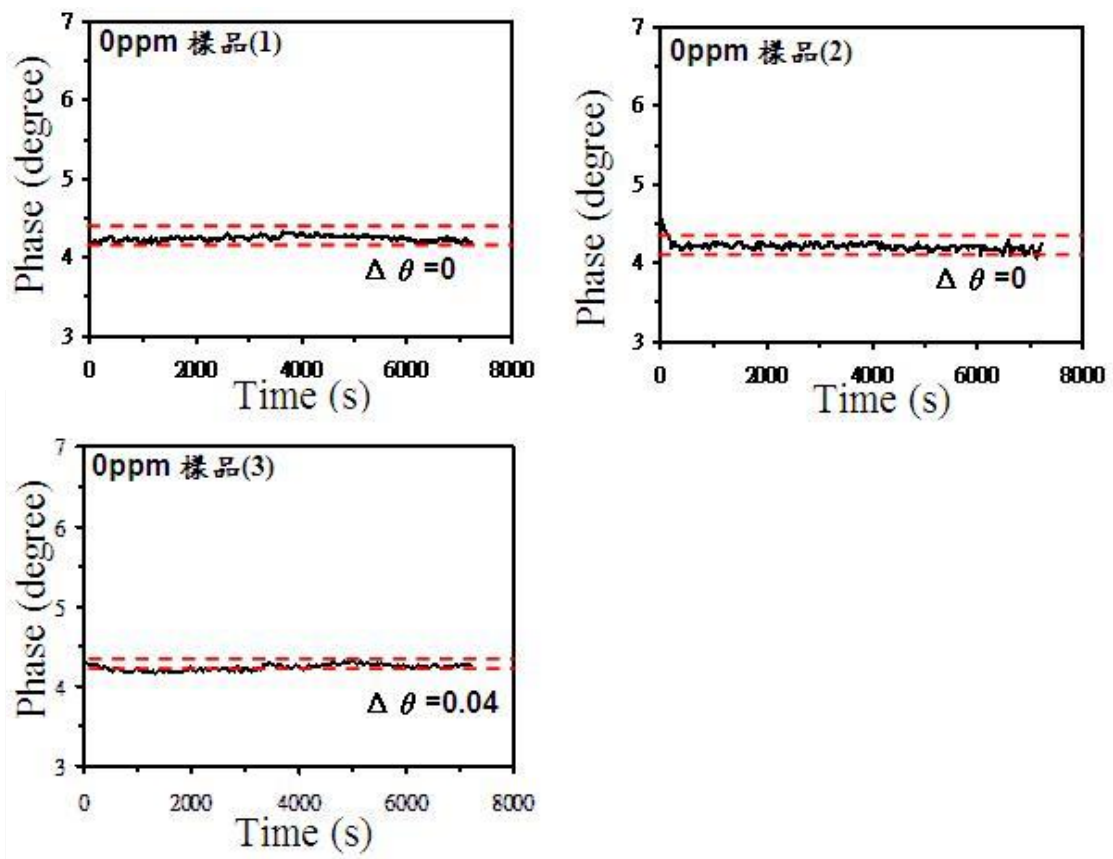


圖 4-4-11 SQUID χ_{ac} 量測 0ppm AFP 蛋白質的數據

最後我們將每個濃度的相位平均，並畫在同一張圖中，一個濃度一筆數據如圖 4-4-12

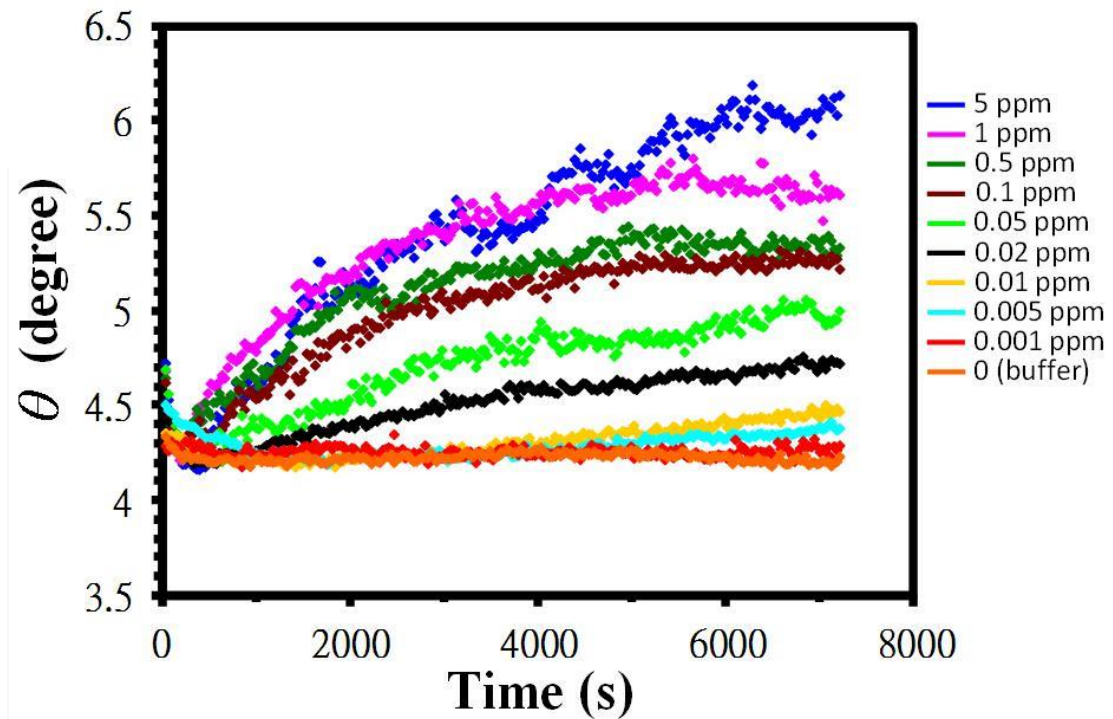


圖 4-4-12 將同樣濃度數據平均後繪製成一張圖

圖 4-4-12 中可發現相位延遲的角度隨著濃度變化而變化，因此我們對相位變化做進一步的分析，首先 θ 和 $\Delta\theta/\theta_0$ 用 logistic function fitting，如圖 4-4-13、圖 4-4-14

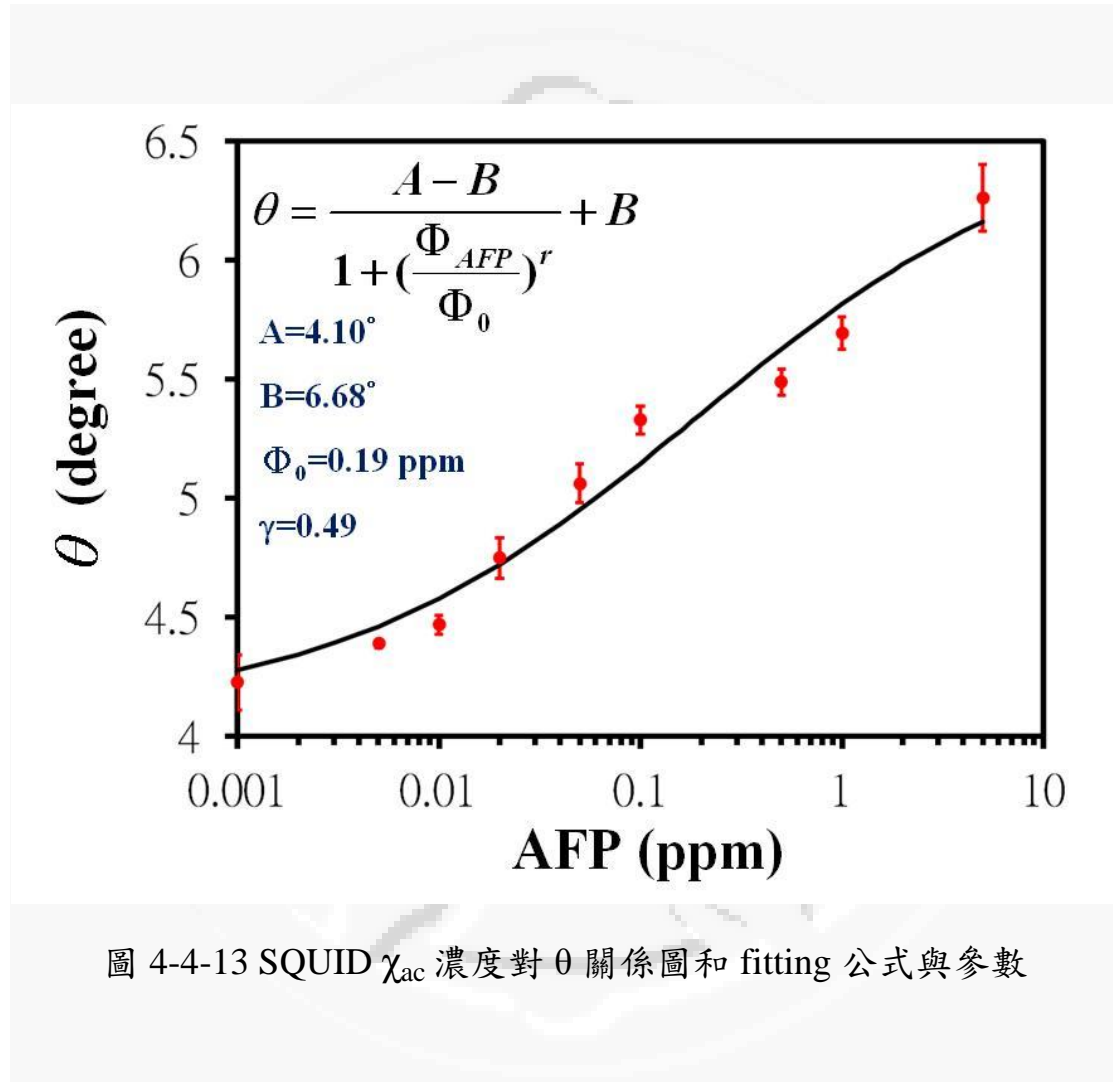


圖 4-4-13 SQUID χ_{ac} 濃度對 θ 關係圖和 fitting 公式與參數

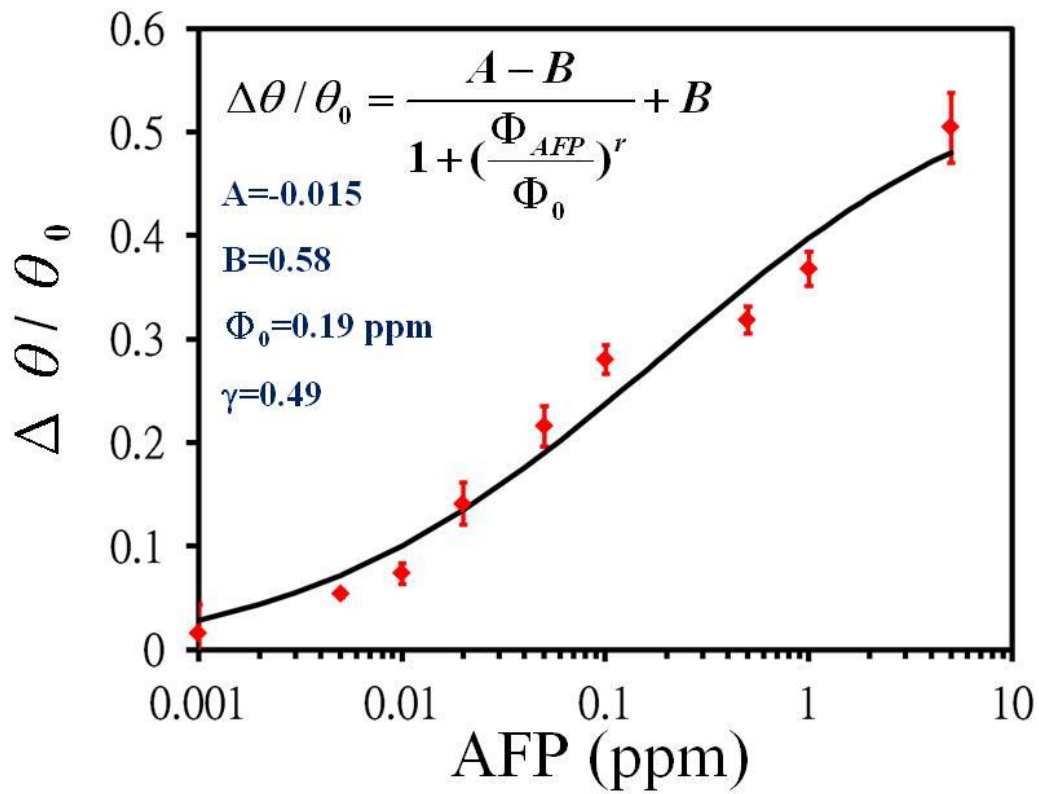


圖 4-4-14 SQUID χ_{ac} 濃度對 $\Delta\theta/\theta_0$ 關係圖和 fitting 公式與參數

另外我們也利用相位延遲的角度用公式換算 τ (Relaxation time)，公式如 Eq.(4-4):

$$\tan\theta = \omega\tau \quad \text{Eq.(4-4)}$$

此處 θ 為相位延遲的角度， τ 為鬆弛時間(Relaxation time)，

求出 τ 後使用與圖 4 的定義取 τ 並算出 $\Delta\tau/\tau_0$ ，同樣用 logistic function fitting，結果如圖 4-4-15、圖 4-4-16。

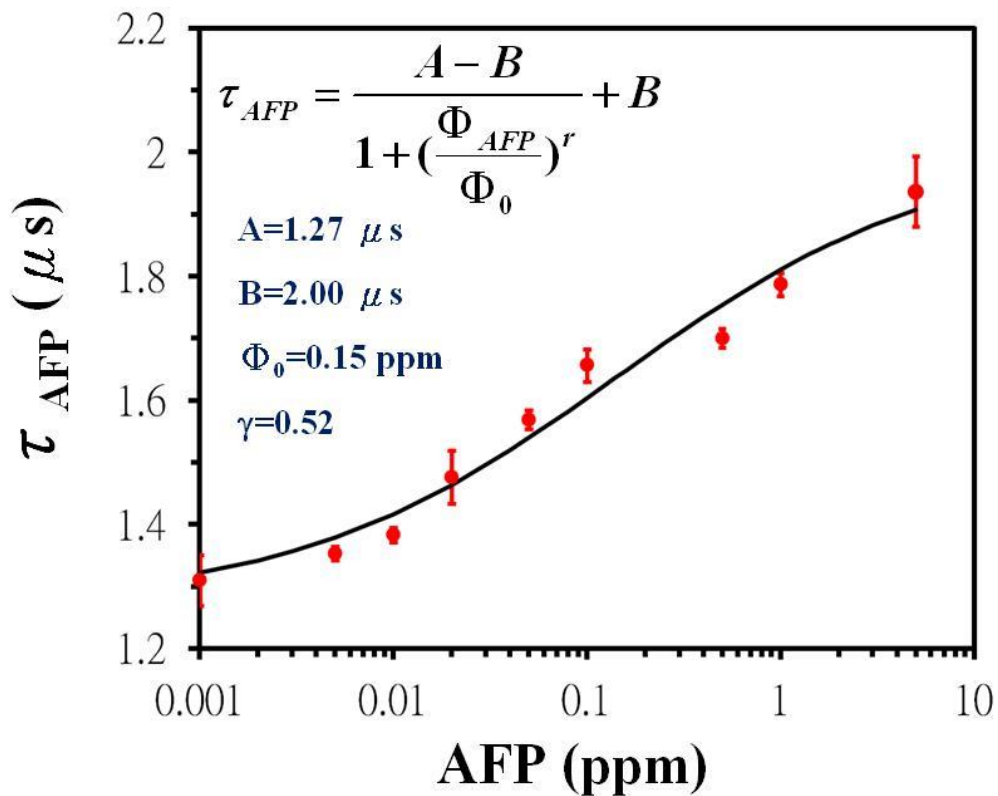


圖 4-4-15 SQUID χ_{ac} 濃度對 τ 關係圖和 fitting 公式與參數

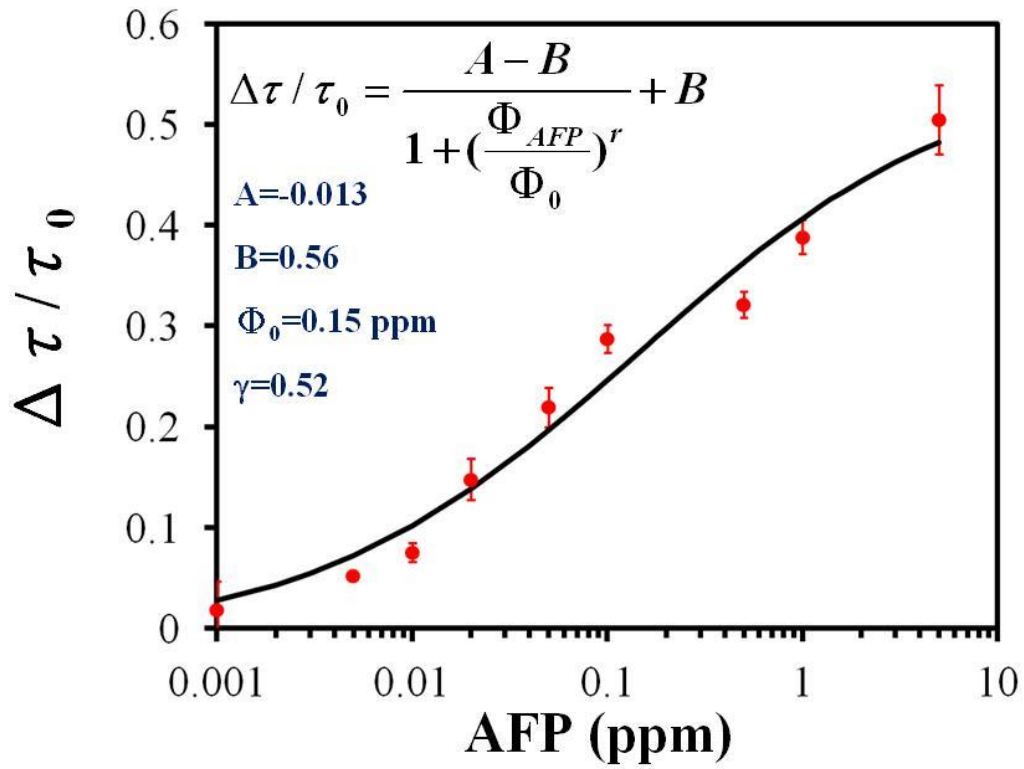
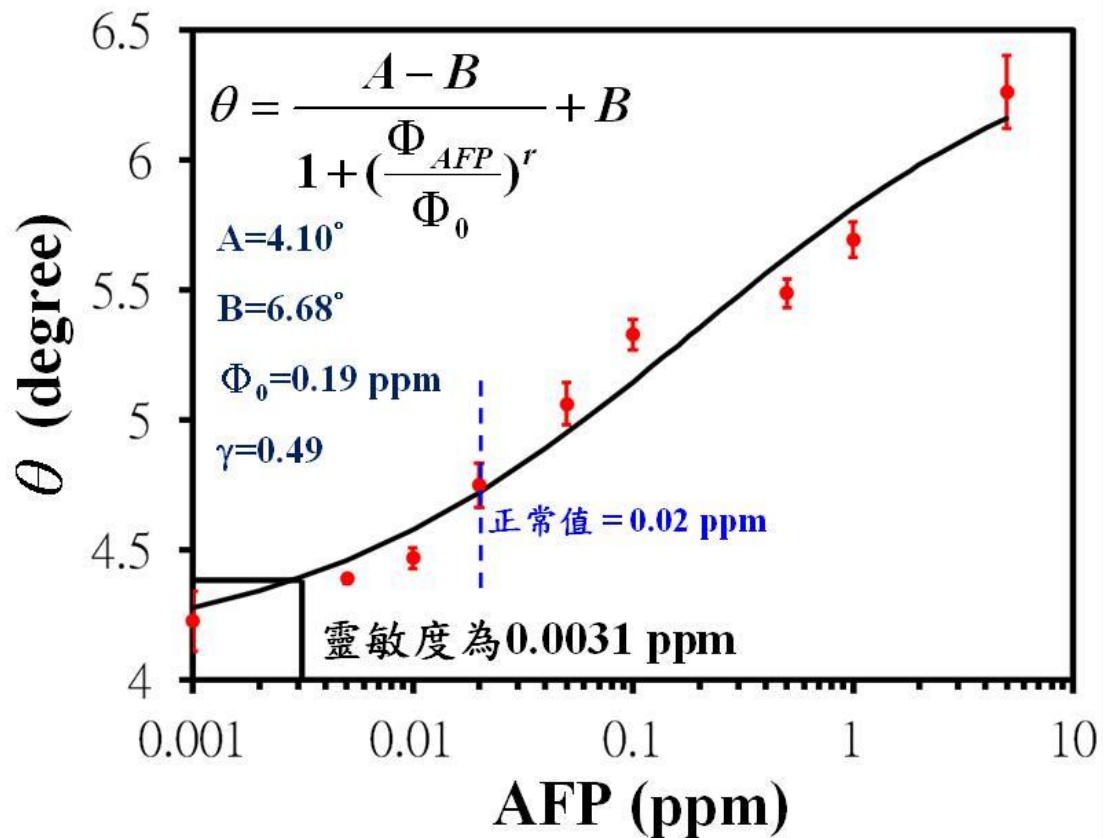


圖 4-4-16 SQUID χ_{ac} 濃度對 $\Delta\tau/\tau_0$ 關係圖和 fitting 公式與參數

利用圖 4-4-13 來說明此系統的靈敏度，首先我們取圖 4-4-13 中 fitting 線上 0.001 ppm 濃度的值，並加上實驗量測出的 error bar，代入 logistic function 中算出濃度，便是此系統所能辨識出的最低濃度，以圖 4-4-17 來補充說明，得知靈敏度為 0.0031 ppm。比起 AFP 蛋白質標準值 0.02 ppm 低了許多。



4-5 單頻交流磁化儀之測量

4-5-1 單頻交流磁化儀系統介紹

不同於本實驗所架設之系統，單頻交流磁化儀直接利用擷取線圈擷取到的樣品訊號，不經由 SQUID 讀取，直接輸入鎖相放大器，觀察樣品的訊號變化，由於沒有依靠 SQUID 讀取訊號，所以線圈的匝數也不盡相同。圖 4-5-1、圖 4-5-2 是此系統的線圈架構與匝數，圖 4-5-3 為屏蔽桶與線圈架構，圖 4-5-4 為整體架構示意圖。圖 4-5-5 用表格說明電子式單頻交流磁化儀與 SQUID 單頻交流磁化儀架構與 SNR 值的差異。

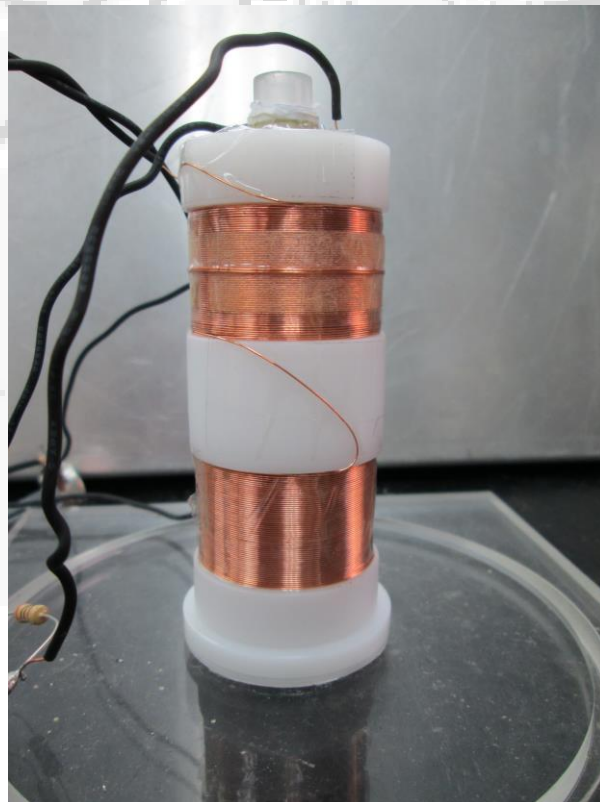


圖 4-5-1 舊系統線圈實體圖

	線徑	匝數
激發線圈	0.3mm	4480匝
擷取線圈	0.3mm	上下各1260匝
接收線圈	0.3mm	無

圖 4-5-2 舊系統線圈匝數

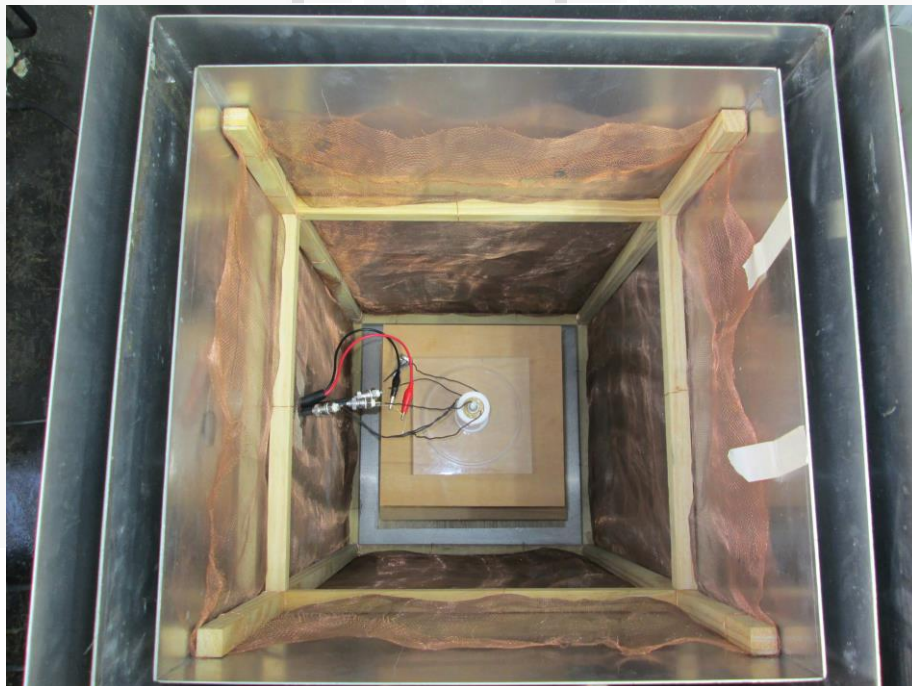


圖 4-5-3 方形屏蔽桶和線圈

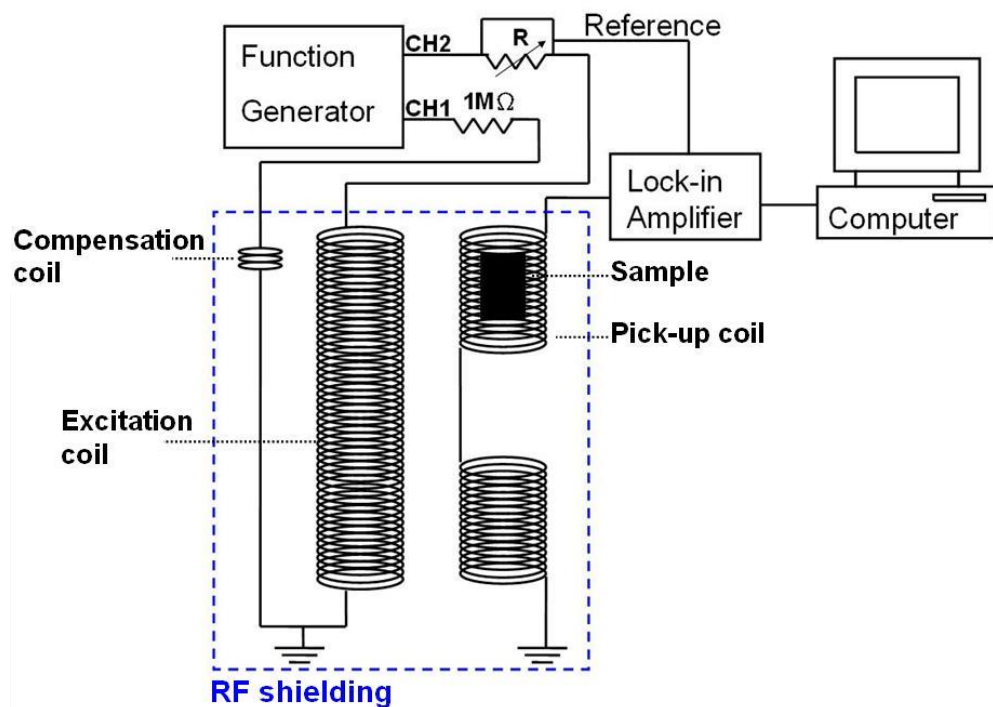


圖 4-5-4 單頻交流磁化儀系統架構圖

	SQUID χ_{ac}	χ_{ac}
激發線圈匝數	1440 匝	4480 匝
擷取線圈匝數	上下各300匝	上下各1260匝
接收線圈匝數	300 匝	無
補償線圈匝數	1 匝	1 匝
屏蔽桶尺寸	20*20* π (cm)	48*48*87(cm)
SNR 值	1000	400

圖 4-5-5 SQUID χ_{ac} 與 χ_{ac} 系統比較表

4-5-2 單頻交流磁化儀系統偵測不同濃度 AFP 之相位變化

實驗方法與 4-3 章介紹時相同，我們 MF (coated AntiAFP) 皆使用 40 μL ，AFP 蛋白質溶液使用 60 μL ，回溫後混合並使用震盪機震盪，觀察相位的變化，總共嘗試九種不同的濃度，首先嘗試加入 10 ppm 的 AFP 蛋白質溶液，實驗的結果如圖 4-5-6；再來實驗 AFP 試劑濃度 5 ppm 得到相位的變化如圖 4-5-7；接著是 AFP 試劑濃度 2.5 ppm 得到相位的變化如圖 4-5-8；然後是 AFP 試劑濃度 1 ppm 得到相位的變化如圖 4-5-9；AFP 試劑濃度 0.5 ppm 得到相位的變化如圖 4-5-10；AFP 試劑濃度 0.1 ppm 得到相位的變化如圖 4-5-11；AFP 試劑濃度 0.05 ppm 得到相位的變化如圖 4-5-12；AFP 試劑濃度 0.01 ppm 得到相位的變化如圖 4-5-13。

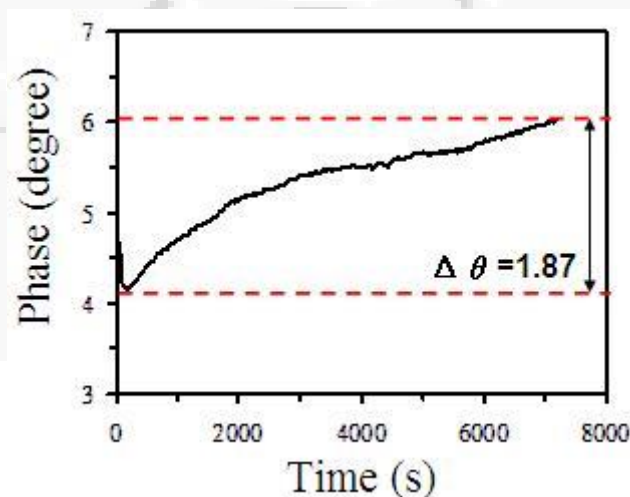


圖 4-5-6 χ_{ac} 量測 10ppm AFP 蛋白質的數據

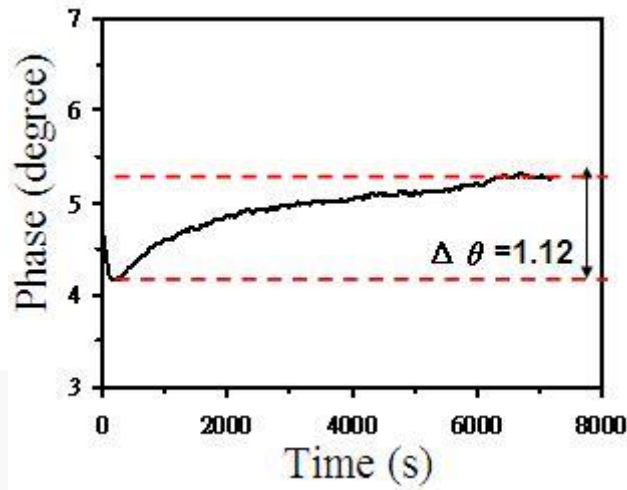


圖 4-5-7 χ_{ac} 量測 5ppm AFP 蛋白質的數據

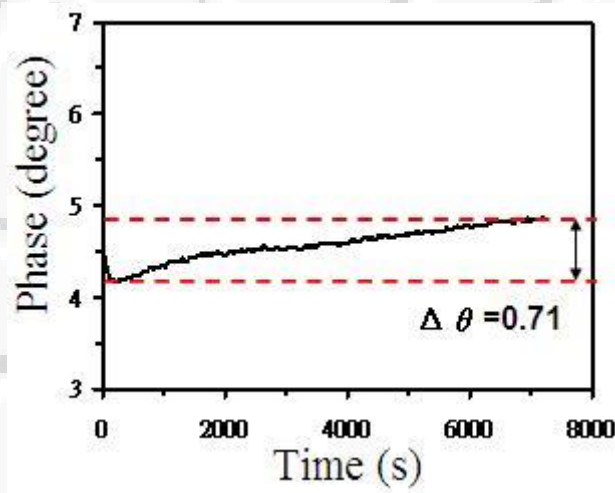


圖 4-5-8 χ_{ac} 量測 2.5ppm AFP 蛋白質的數據

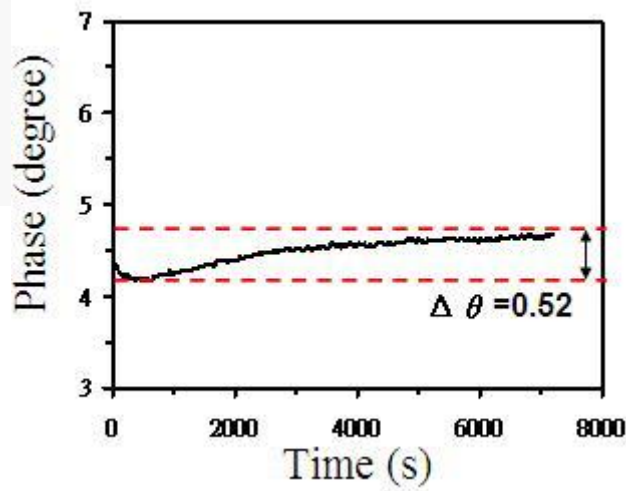


圖 4-5-9 χ_{ac} 量測 1ppm AFP 蛋白質的數據

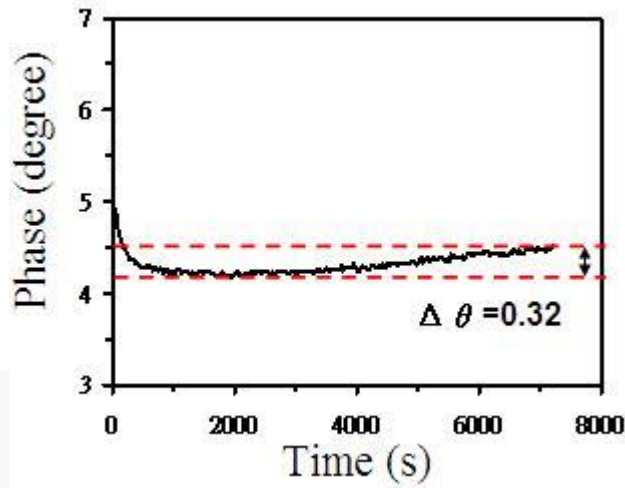


圖 4-5-10 χ_{ac} 量測 0.5ppm AFP 蛋白質的數據

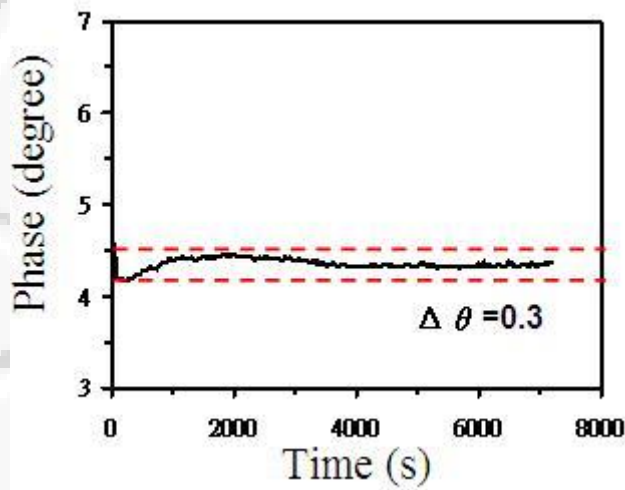


圖 4-5-11 χ_{ac} 量測 0.1ppm AFP 蛋白質的數據

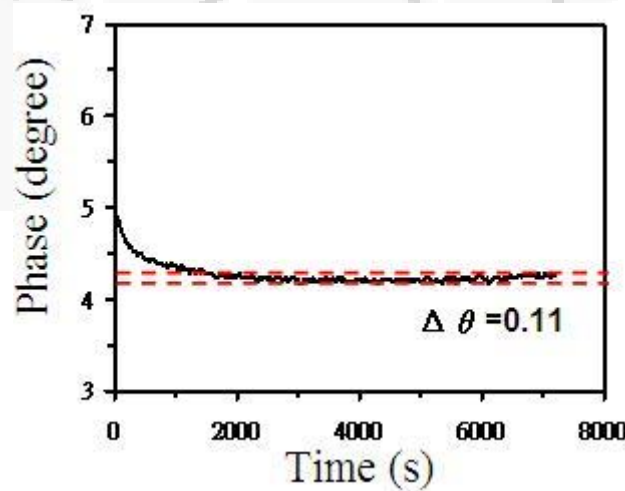


圖 4-5-12 χ_{ac} 量測 0.05ppm AFP 蛋白質的數據

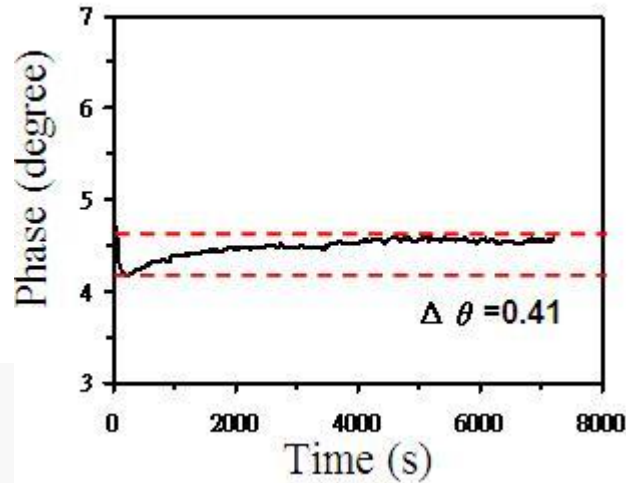


圖 4-5-13 χ_{ac} 量測 0.01ppm AFP 蛋白質的數據

對相位變化做進一步的分析，首先 $\Delta\theta$ 和 $\Delta\theta/\theta_0$ 用 logistic function fitting，如圖 4-5-14、圖 4-5-15。

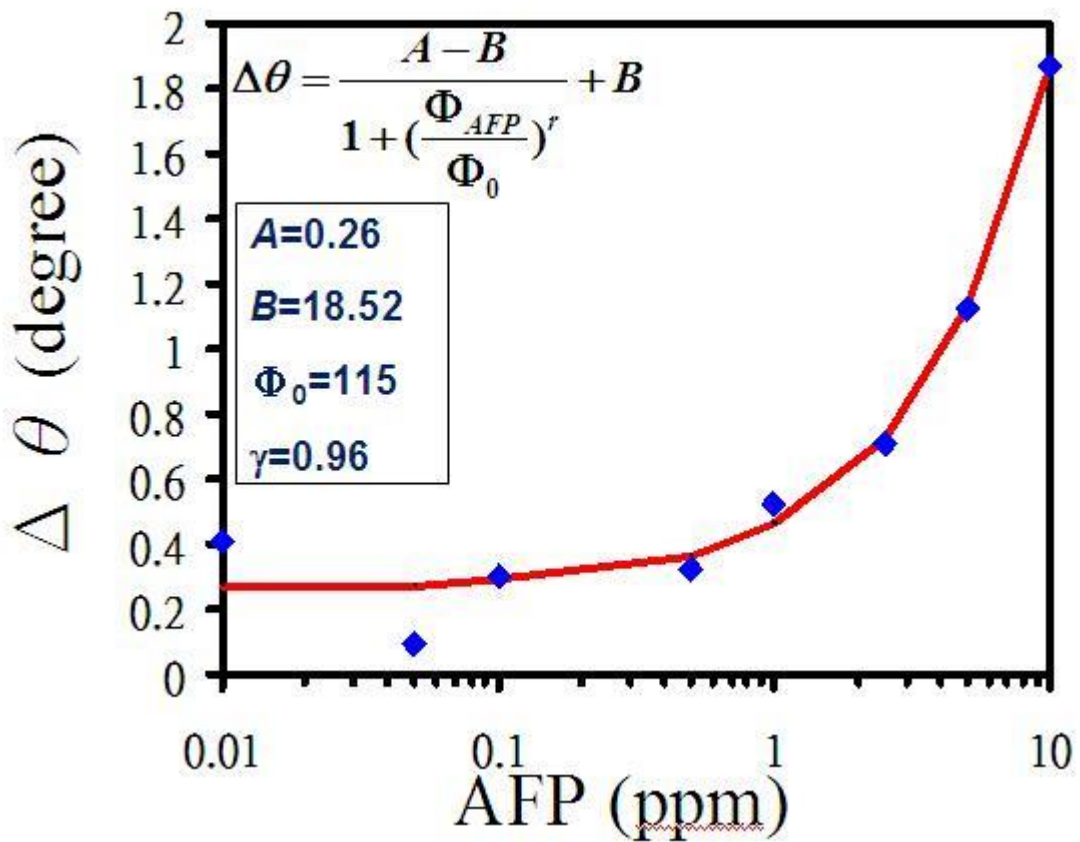


圖 4-5-14 χ_{ac} 濃度對 $\Delta\theta$ 關係圖和 fitting 公式與參數

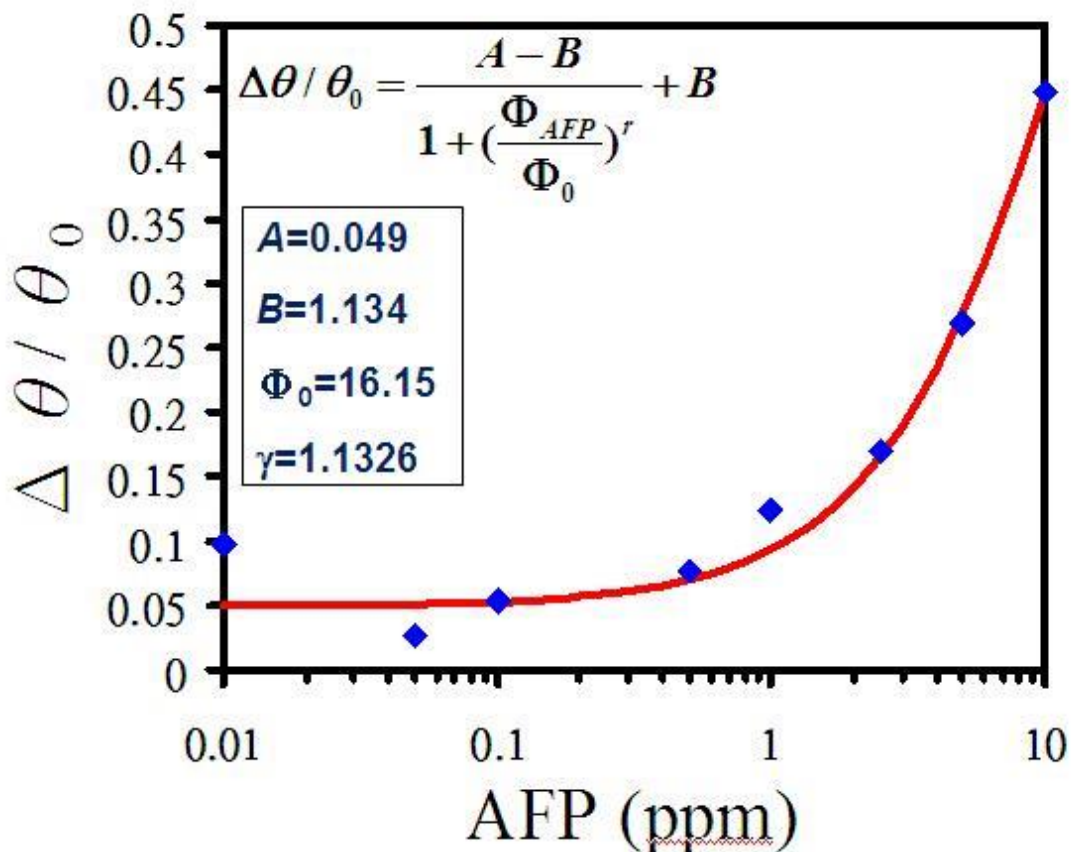


圖 4-5-15 χ_{ac} 濃度對 $\Delta\theta/\theta_0$ 關係圖和 fitting 公式與參數

利用相位延遲的角度用公式換算 τ (Relaxation time)，公式如 Eq.(4-4)

用 logistic function fitting，結果如圖 4-5-16、圖 4-5-17

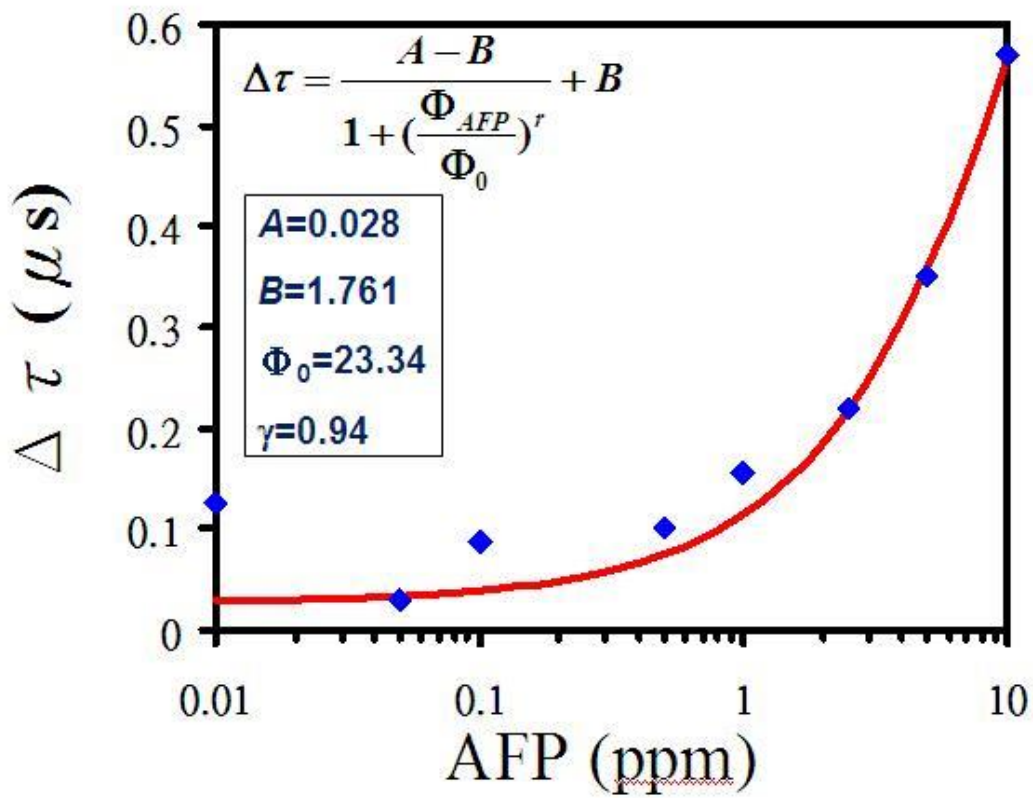


圖 4-5-16 χ_{ac} 濃度對 $\Delta\tau$ 關係圖和 fitting 公式與參數

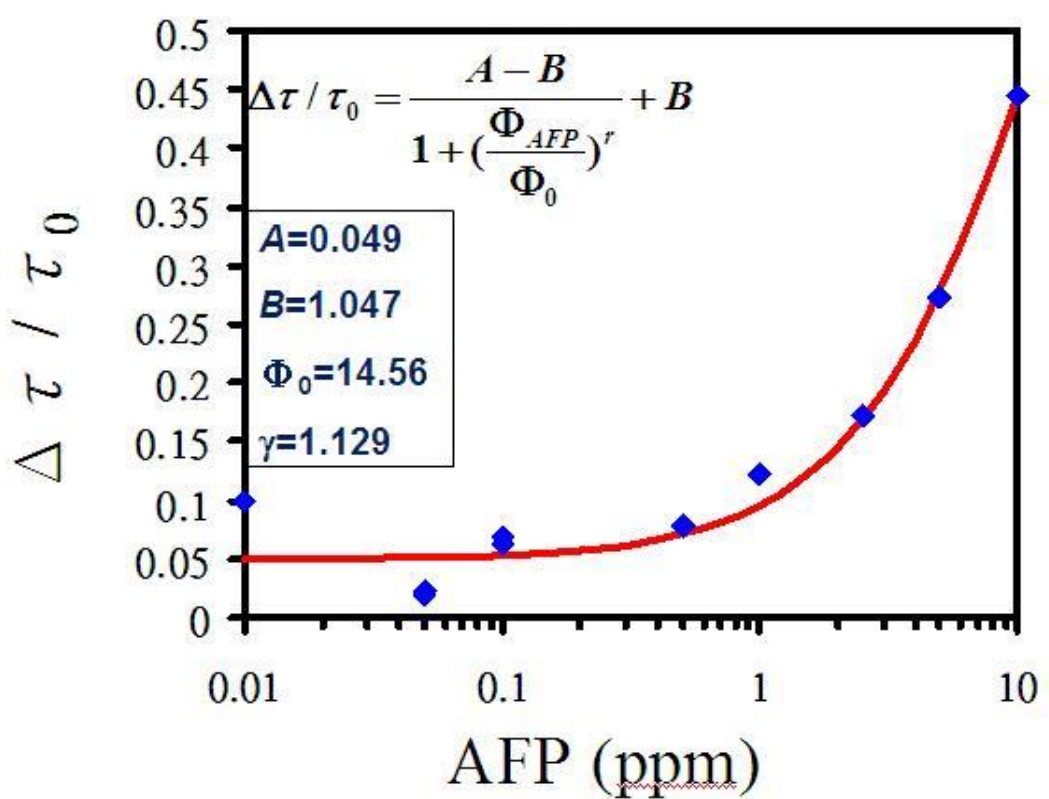


圖 4-5-17 χ_{ac} 濃度對 $\Delta\tau/\tau_0$ 關係圖和 fitting 公式與參數

4-5-3 SQUID χ_{ac} 與 χ_{ac} 實驗結果比較

從圖 4-5-18 和圖 4-5-19 比較， χ_{ac} 系統在 1ppm 以下濃度的數據已經看不出來隨著濃度改變的趨勢，反觀 SQUID χ_{ac} 系統在 1ppm 以下濃度仍然可以看出明顯的趨勢，又因為 AFP 蛋白質正常值為 0.02ppm，表示 χ_{ac} 系統無法用於判斷 AFP 蛋白質濃度，SQUID χ_{ac} 則是能測到 0.01ppm 以下的濃度。

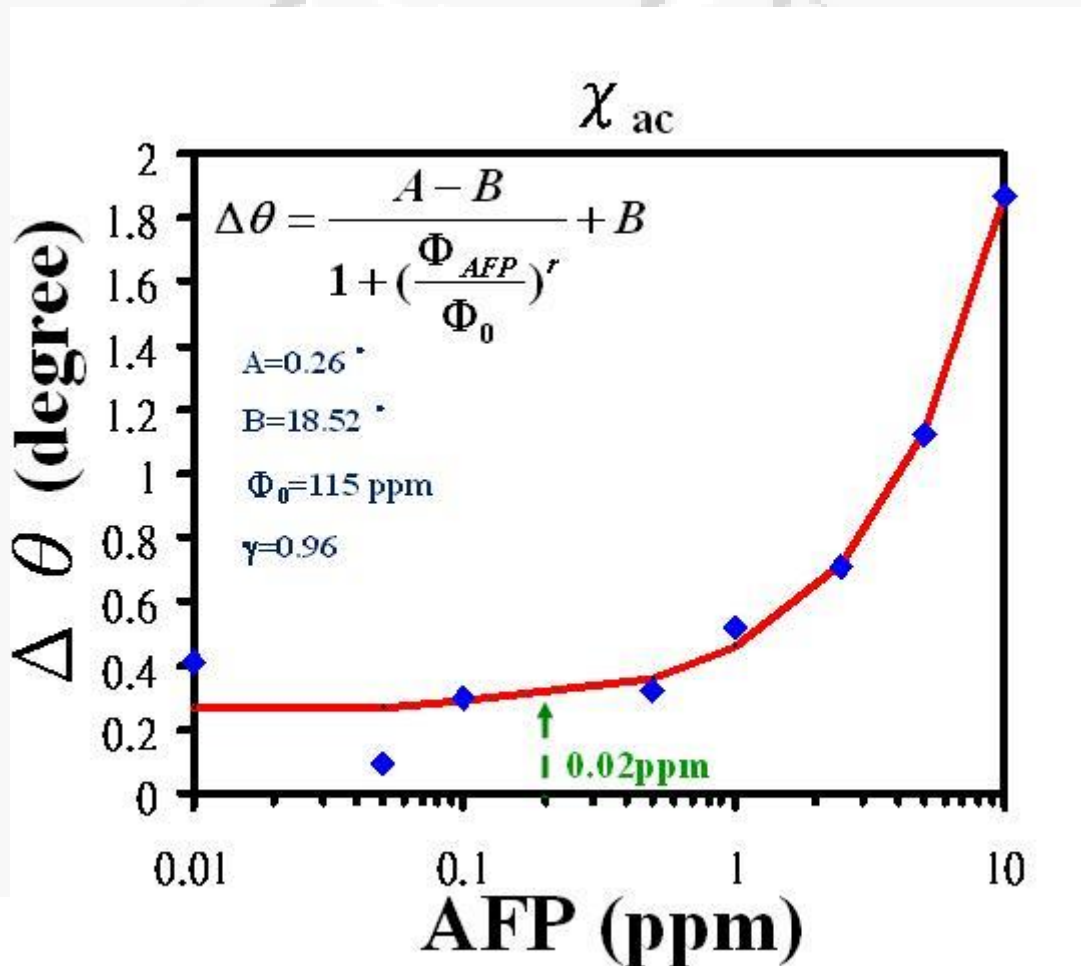


圖 4-5-18 0.02ppm 濃度無法辨識

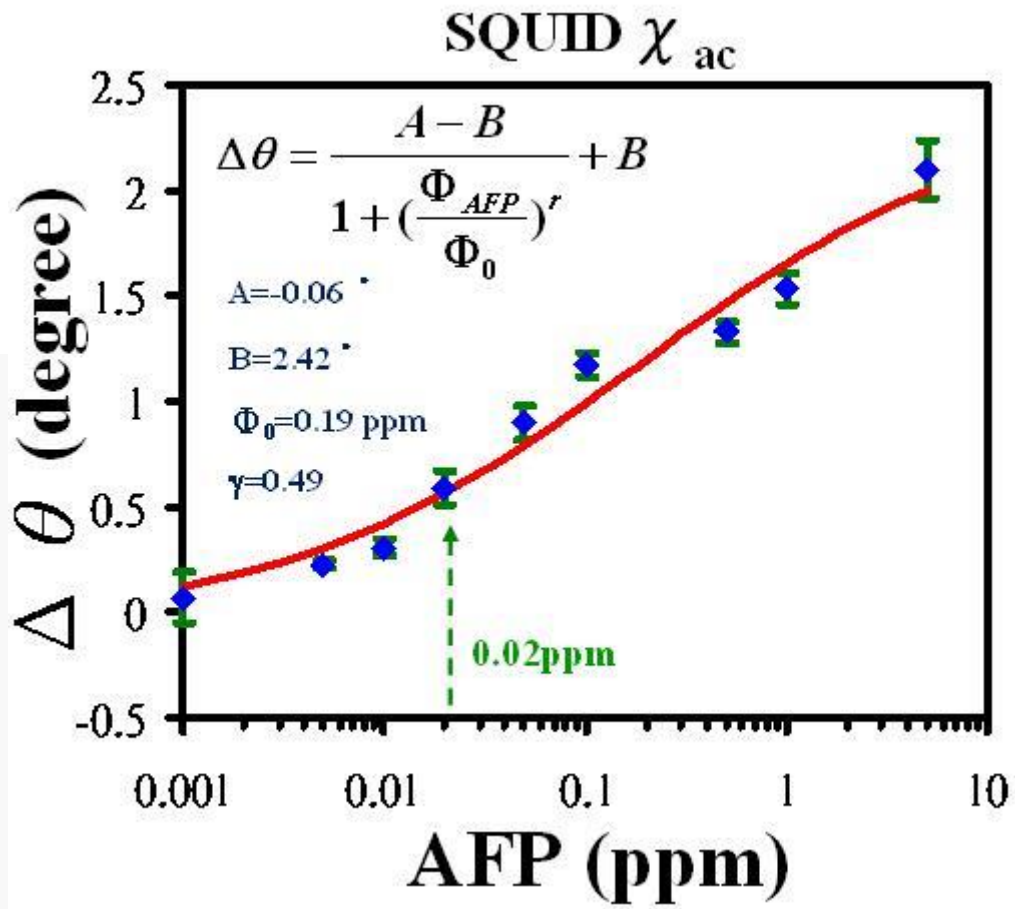


圖 4-5-19 0.02ppm 濃度有鑑別度

第五章 結論

本實驗中使用的是 SQUID 單頻交流磁化儀，感測器使用的是超導量子干涉元件(SQUID)，能夠讀取到極微小的磁場變化，所以 SNR 值增加到了 1000 比電子式的單頻交流磁化儀 400 多大了 2 倍以上，靈敏度提升對於本篇文章中量測的樣品 AFP 蛋白質是很重要的，因為 AFP 蛋白質正常值為 0.02ppm，而電子式單頻交流磁化儀可偵測濃度卻只到 1ppm，無法偵測 AFP 蛋白質，SQUID 單頻交流磁化儀有效提升靈敏度至 0.0031ppm，能夠準確判讀 AFP 蛋白質濃度，達到早期發現，早期治療的效果。

對於本系統還有一些缺點，如樣品反應時間需兩小時、一次只能量測一組樣品等...如果這些缺點能改善，我想在實際量測過程上，會更有效率和準確性，目前這套系統已經接近完整，未來期待能否再提升靈敏度，朝偵測到更低濃度的樣品繼續前進。

參考文獻

- [1] H.C. Yang, S.Y. Yang, G.L. Fang, W.H. Huang, C.H. Liu, S.H. Liao, H.E. Horng, C.Y. Hong, J. Appl. Phys. , 99 , 124701 (2006)
- [2] K. Enpuku, T. Minotani, T. Gima, Y. Kuroki, Y. Itoh, M. Yamashita, Y. Katakura, S. Kuhara, Jpn. J. Appl. Phys., 38 ,L1102(1999)
- [3] C.Y. Hong, C.C. Wu, Y.C. Chiu, S.Y. Yang, H.E. Horng, H.C. Yang, Appl. Phys. Lett., 88,212512 (2006)
- [4] J. Clarke, “In SQUID Sensors : Fundamentals, Fabrication and Applications,” NATO ASI series, edited by H. Weinstock (Kluwer Academic, Dordrecht), 1 (1996)
- [5] J. Bauer, J. Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 722, 55(1999).
- [6] P.J. Fisher, M.J. Springett, A.B. Dietz, P.A. Bulur, and S. Vuk-Pavlovic, J. Immunological Methods, 262, 95(2002).
- [7] W.Q. Jiang, H.C. Yang, S.Y. Yang, H.E. Horng, J.C. Hung, Y.C. Chen, and Chin-Yih Hong, J. Magn. Magn. Mater., 283, 210 (2004).
- [8] H.E. Horng, S. Y. Yang, Y. W. Huang, W. Q. Jiang, C.-Y. Hong, and H.C. Yang, IEEE Trans. Appl. Supercond., 15, 668(2005).
- [9] H.E. Horng, Chin-Yih Hong, S.Y. Yang, H.C. Yang, S.H. Liao, C.M. Liu, and C.C. Wu, J. Korean Phys. Soc., 48, 999(2006)
- [10] R. Kötz, W. Weitschies, L. Trahms, W. Brewer and W. Semmler, J. of Magn. and Magn. Mater., 194 ,65(1999)
- [11] P. Debye, Polar Molecules, Chemical Catalog Company, New York, 1929.
- [12] Helen W. Davies and J. Patrick Llewellyn, J. Phys. D, 12,

1357(1979).

[13] Nihad A. Yusuf, Jpn. J. Appl. Phys., 27, 2418(1988).

[14] S. Neveu-Prin, F.A. Tourinho, J.-C. Bacri, and R. Perzynski, Colloids and Surf. A, 80, 1(1993).

[15] L. Néel, Ann. Geophys., 5, 99(1949).

[16] Paul M. Ridker, Julie E. Buring, Nancy R. Cook, Nader Rifai.,
Circulation 107:391-397, 2003

[17] Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, JAMA 286:327-334. ,2001

[18] Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, N Engl J Med.
342:836-843, 2000

[19] A. Thomas, A. George, R. Wayne Alexander, Jeffrey L. Anderson ,
Circulation 107:499-511. , 2003