

國立臺灣師範大學

光電科技研究所

碩士論文

Institute of Electro-Optical Science and Technology

National Taiwan Normal University

八通道高溫超導免疫分析儀研製及 Tau 蛋白檢
測應用

The development of 8-channel high- T_c
Superconducting-Quantum-Interference-Device-based
immunoassay analyzer with Tau protein detection

指導教授：洪姮娥 教授

謝振傑 教授

研究生：林鳳群

中華民國 一〇三 年 七 月

摘要

近年來超導量子干涉元件(Superconducting Quantum Interference Device, SQUID)頻繁的應用在生物醫學上。本研究使用了高溫超導量子干涉元件，研製八通道高溫超導免疫分析儀，並配合實驗室研發的生物分子標記磁性奈米粒子和超靈敏磁減量(Immuno Magnetic Reduction, IMR)免疫檢測技術。以往高溫超導免疫分析儀在檢測磁性標記的免疫測定法時，常常因為通道數不夠，單一樣品檢測就非常耗時，所以我們為提升四通道高溫超導免疫分析儀，所以進行的技術上的改進，並配合檢測 Tau 蛋白磁減量，來確認八通道高溫超導免疫分析儀的可靠性。

八通道高溫超導免疫分析儀為了符合量測速率的需求，提高檢測通道，使日益增長的檢測量需求暫且得到滿足。在實驗過程中，也藉著增進四通道的效能，改變了一些器件，在 Switch 中我們改變了電路板的電路圖及繼電器元件，增加了量測上的彈性；也改變了線圈組的長度，將原本四通道線圈組的長度縮短二分之一，在日後如需要量產製作的時候，能夠將時間縮短很多，且空間方面也占了比較小的空間；接線方面，也將 BNC 接頭換成屏蔽效果較佳的鍍金 SMA 接頭。目前八通道高溫超導免疫分析儀成了如要量測多種樣品時最好的選擇，只需要簡易的方法配合上試劑即可得到結果，非常符合生物醫學快速簡便的要求。

關鍵字：超導量子干涉元件、磁減量

目錄

摘要-----	1
目錄-----	2
第一章 序論-----	3
1.1 研究背景-----	3
1.2 研究動機及目的-----	5
第二章 實驗原理-----	6
2.1 rf SQUID 工作原理-----	6
2.2 磁減量免疫原理-----	10
第三章 實驗方法-----	12
3.1 八通道高溫超導免疫分析儀製作-----	12
3.1.1 分析儀架構-----	12
3.1.2 分析儀各部器件特性-----	15
3.2 Tau 蛋白磁減量檢驗程序-----	36
第四章 實驗結果-----	38
4.1 八通道高溫超導免疫分析儀特性-----	38
4.2 Tau 蛋白磁減量結果 -----	41
第五章 結論-----	43
參考文獻-----	44

第一章 序論

1.1 研究背景

近年來超導量子干涉元件(Superconducting Quantum Interference Device, SQUID)頻繁的應用在生物醫學上。目前所知 SQUID 是最靈敏的磁通檢測器，因為其獨特的週期特性，成為微弱物理量量測上最靈敏的感測元件¹⁻⁴。許多論文也發表了儀器以 SQUID 為基礎的應用，藉著檢測微弱磁訊號，SQUID 可組成心磁波及腦磁波掃描儀，可立即顯示生物的心磁或腦磁圖像，以做為醫學在心臟功能或腦功能臨床輔助診斷工具，還可用於磁性標記的免疫測定法，及超低磁場核磁共振等⁵⁻⁸。

本研究群自 2006 年起，陸續開發出單通道⁹(圖一)與四通道¹⁰(圖二)以高溫超導量子干涉元件為感測器的磁性標記免疫檢測系統，並結合 2004 年研發出的生物分子標記磁性奈米粒子，開發出超靈敏磁減量(Immuno Magnetic Reduction, IMR)免疫檢測技術¹¹⁻¹⁷，實際應用上，證實了超導磁性標記免疫檢測對於蛋白質檢測、病毒檢測、核酸檢測、小分子檢測等，顯示出 IMR 具有非常高的檢測靈敏度(甚至比 LC/MS 還靈敏)，且有研究中顯示在臨床與研究應用上的潛力⁹。



圖一. 單通道高溫超導免疫分析儀。第一套以高溫超導量子干涉元件為感測器的磁性標記免疫檢測系統⁹。



圖二. 四通道高溫超導免疫分析儀¹⁰。

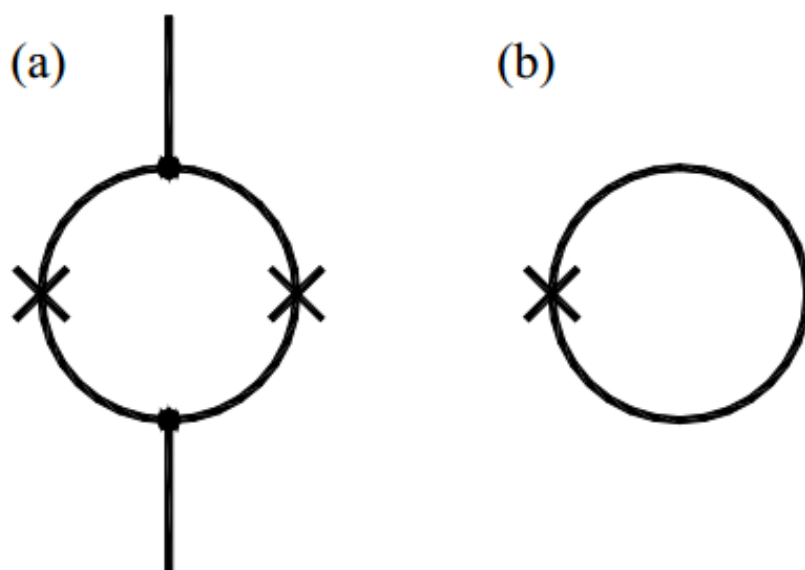
1.2 研究動機及目的

由於以 SQUID 為感測器的磁性標記免疫檢測系統，其技術壁壘較高，這樣的 SQUID 的系統，免疫測定目前只有一個或四個的檢測通道而已，即通道數目較少¹¹。目前急需提高檢測通道，使日益增長的檢測量需求得到滿足。在此次研究中，以四通道高溫超導免疫分析儀為基礎，我們打算改良 Switch 電路板與線圈組和其他接線接頭，使線圈量測中更有彈性化，且線圈組的改良使得在日後要生產製作上，多有方便省時，所以我們擬研發具有八個檢測通道的系統，改善了數量上的限制，來取得更多檢測數據，並且運用磁減量(ImmunoMagnetic Reduction, IMR)免疫檢測技術¹¹⁻¹⁷，檢測 Tau 蛋白，且採用對磁訊號非常靈敏的高溫超導量子干涉元件¹⁻⁴，來偵測極小的磁減量訊號，以成就極靈敏的生物分子檢測。我們此次研究目的，在於八通道高溫超導免疫分析儀研製與應用於 Tau 蛋白的磁減量檢測進行探討，作為在臨床研究診斷上的輔助工具及應用。

第二章 實驗原理

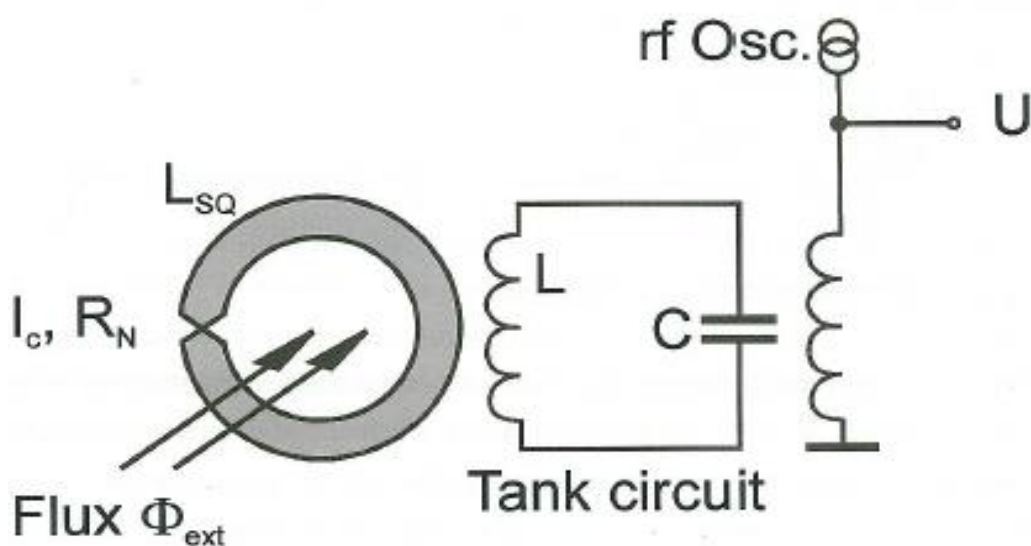
2.1 rf SQUID 工作原理

西元 1965 年底，美國福特汽車公司科學研究部門的 Arnold H. Silver 和 James E. Zimmerman，發表在 rf SQUID 超導環中只有一個約瑟夫芬接面的元件¹⁸⁻¹⁹，如圖三(b)，也可以作為磁通量轉換為電壓的元件，因為在超導環中只有一個約瑟夫森接面，使用交流約瑟夫芬效應，必須利用射頻(radio frequency)電磁波將變化量耦合測量出來，於是便被稱為射頻超導量子干涉元件³⁻⁴。而具有兩個約瑟芬接面的超導量子干涉元件，因為可以外加偏壓電流，直接量到磁通量所產生的電壓變化，故名稱是直流超導量子干涉元件，如圖三(a)。



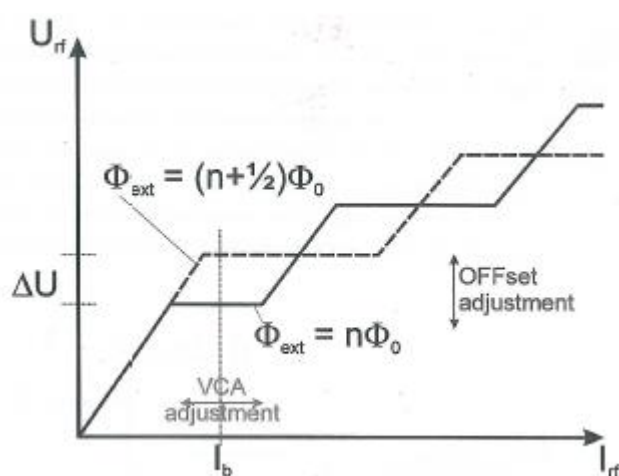
圖三. 超導量子干涉元件的示意圖：(a)直流超導量子干涉元件；
(b)射頻超導量子干涉元件。圖中 $\times$ 的符號代表約瑟芬接面¹⁸⁻¹⁹。

rf SQUID(radio-frequency SQUID)²⁰ 是由一個超導環內加上一個約瑟芬
 接面所組成，其超導環的電感值為 L_{SQ} ，rf SQUID 在耦合 LC Tank Circuit 形
 成互感，rf SQUID 與 LC Tank Circuit 會在角頻率 ω_{rf} 下產生共振如圖四，
 其中 I_c 為臨界電流， R_N 為電阻障壁， L_{SQ} 為 rf SQUID 電感，產生出 Flux
 Φ_{ext} 後由 Tank circuit 中之電感 L 、電容 C 電路讀取，利用 rf Osc 控制後，
 輸出交流電壓 U 。超導環的內部通過磁通為量子化狀態，rf SQUID 其內部
 磁通會產生磁滯現象，外加能量會消耗於 rf SQUID 內。

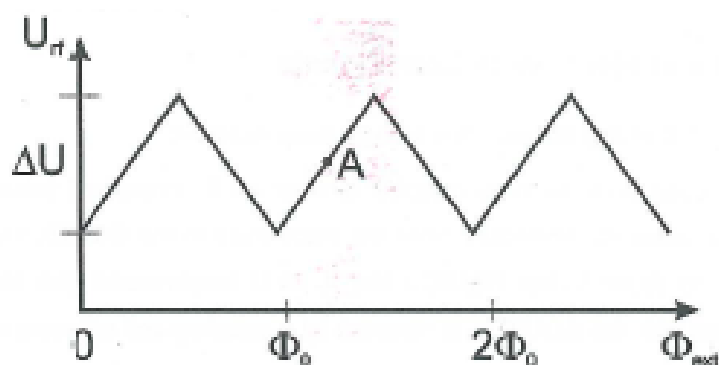


圖四. rf SQUID 之示意圖²⁰，其中 I_c 為臨界電流， R_N 為電阻障壁， L_{SQ} 為 rf
 SQUID 電感，產生出 Flux Φ_{ext} 後由 Tank circuit 中之電感 L 、電容 C 電路讀
 取，利用 rf Osc 控制後，輸出交流電壓 U 。

當通過超導環的外部供給磁通 Φ_{ex} ， U_{rf} 為量子化狀態，會呈現交流電壓，因此可以推論出於 $n\Phi_0$ 和 $(n+1/2)\Phi_0$ 時的情況，形成 rf SQUID 的 I-U 曲線，如圖五(a)。當 LC Tank Circuit 輸入固定偏壓電流 I_b ，由於外加磁通為交流變化的情形，輸出電壓會在 $n\Phi_0$ 和 $(n+1/2)\Phi_0$ 水平電壓位準間跳動，輸出電壓呈現週期為 Φ_0 的三角波，如圖五(b)²⁰。

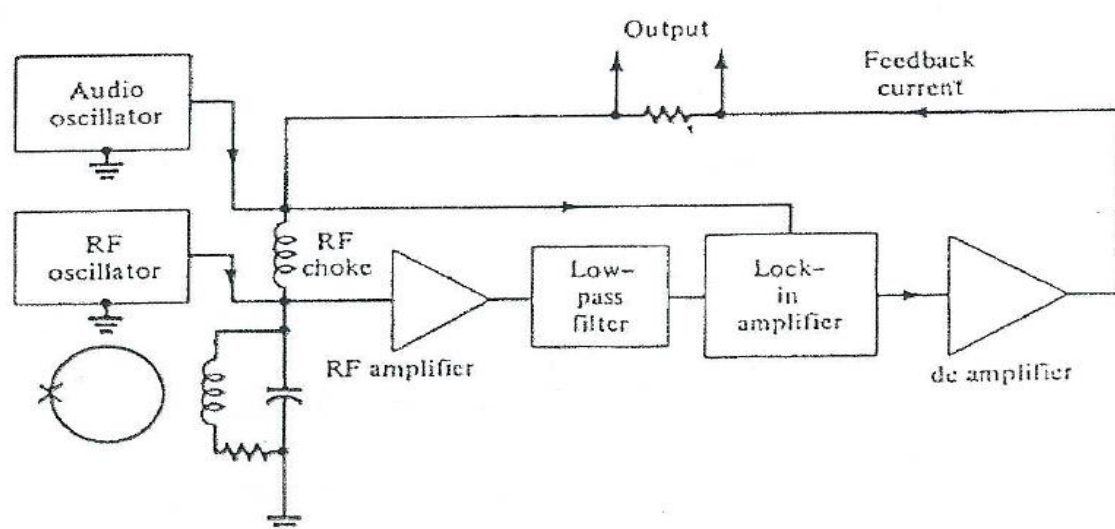


圖五(a). I-V 曲線²⁰。當通過超導環的外部供給磁通 Φ_{ex} ， U_{rf} 為量子化狀態，會呈現交流電壓，分別在等於 $n\Phi_0$ 和 $(n+1/2)\Phi_0$ 的情況時。



圖五(b). V- Φ 曲線²⁰。當 LC Tank Circuit 輸入固定偏壓電流 I_b ，由於外加磁通為交流變化的情形，輸出電壓會在 $n\Phi_0$ 和 $(n+1/2)\Phi_0$ 水平電壓位準間跳動，輸出電壓呈現週期為 Φ_0 的三角波。

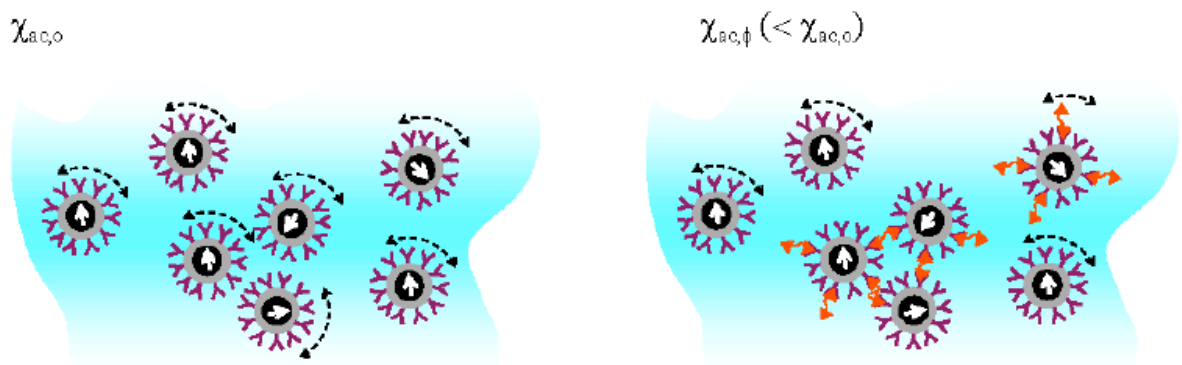
rf SQUID 在實際應用上就是利用對磁通轉電壓轉換特殊性質來量測磁場，圖六為 rf SQUID 的工作電路圖，rf 震盪器提供 tank 電路震盪，Audio 震盪器提供鎖相放大器之磁場調變參考頻率，其頻率約 10KHz，藉由鎖相放大器來鎖定並放大偵測到的微小訊號，經由積分器與回饋電路提供正比於量測磁場的反向電流。反向的回饋電流流回 LC 共振電路，產生的反相磁場與 rf SQUID 量到的磁場相抵消，使磁通對電壓曲線中的工作點又回到線性區的中間位置。在下一瞬間，外加磁通又再度引入 rf SQUID，使磁通對電壓曲線中的工作點隨著外加磁通做線性變化，最後與反向回饋電流產生的反相磁場抵銷，rf SQUID 的工作點就在磁通對電壓特性曲線中的線性區的位置來回變化，若積分器的時間常數夠快，則可以記錄到每個變化的電壓值，最後從示波器上將可觀察到的隨著待測磁通變化而改變的連續電壓波形。



圖六.rf SQUID 工作電路圖。

2.2 磁減量免疫原理¹¹⁻¹⁷

當磁性試劑⁵⁻⁸在外加交流磁場頻率為幾十到幾百萬赫茲時，磁性試劑中的單顆磁珠會受到外加交流磁場的驅動，產生旋轉，磁性試劑因而產生交流磁訊號(χ_{ac})。而當磁性試劑與待測樣品混合後，樣品中的待測生物分子會透過磁珠表面上的生物探針（如抗體），與磁珠相結合。如此，造成試劑中的部份磁珠體積變大，甚或造成多顆磁珠聚集在一起。在此情況下，磁性試劑中可受外加磁場驅動而旋轉的磁珠數目，與先前未與待測樣品混合時的旋轉磁珠數目相較，會少了許多。故磁性試劑的交流磁訊號(χ_{ac})會因待測樣品中受檢生物分子與磁珠的結合，而被降低，此即我們稱此檢測方式為磁減量免疫檢測的原因(圖七)。並且由上述中可知，當樣品中含有越多的待測生物分子時，將有越多的磁珠與待測生物分子相結合，因此將會表現出更大的磁減量。所以，透過磁性試劑的磁減量量測，我們可測得樣品中待測生物分子的含量。



圖七. 磁減量免疫檢測原理示意圖。

舉例來說，我們可以先利用標準品建立一條磁減量 - 濃度的標準曲

線，方程式如下：

$$\text{IMR}(\%) = \frac{A-B}{1+\frac{\phi}{\phi_0}} + B, \quad (1)$$

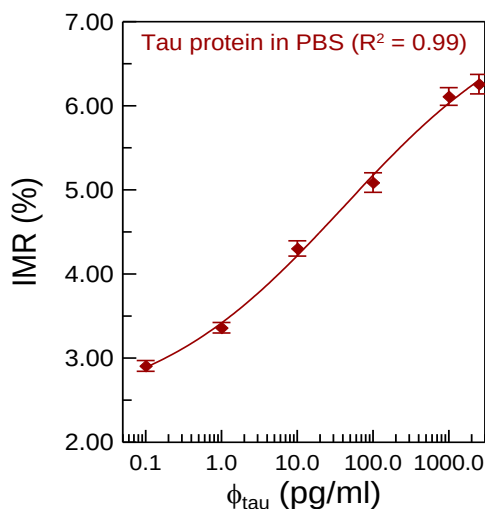
其中 A、B、 ρ 、 ϕ_0 皆為常數， ϕ 為待測物濃度，IMR(%) 為磁減量百分率。

IMR(%) 可用下列方法算出：

$$\text{IMR}(\%) = \frac{\chi_{ac,0} - \chi_{ac,\phi}}{\chi_{ac,0}} \times 100\%, \quad (2)$$

其中， $\chi_{ac,0}$ 為反應前磁訊號， $\chi_{ac,\phi}$ 為反應後的磁訊號。

此為利用 Tau 蛋白標準品在 PBS 中所作之磁減量百分比(IMR%)對濃度 ϕ_{tau} 標準曲線(圖八)，其中 $A=2.28$ 、 $B=7.34$ 、 $\rho=39.03$ 、 $\phi_0=0.33$ 。此後，我們可以將待測物所測得之 IMR(%) 值帶入此曲線，其所對應之 ϕ_{tau} 值即為此待測物中所含 Tau 蛋白濃度。利用此方法，我們即可測得樣品中待測生物分子的含量。



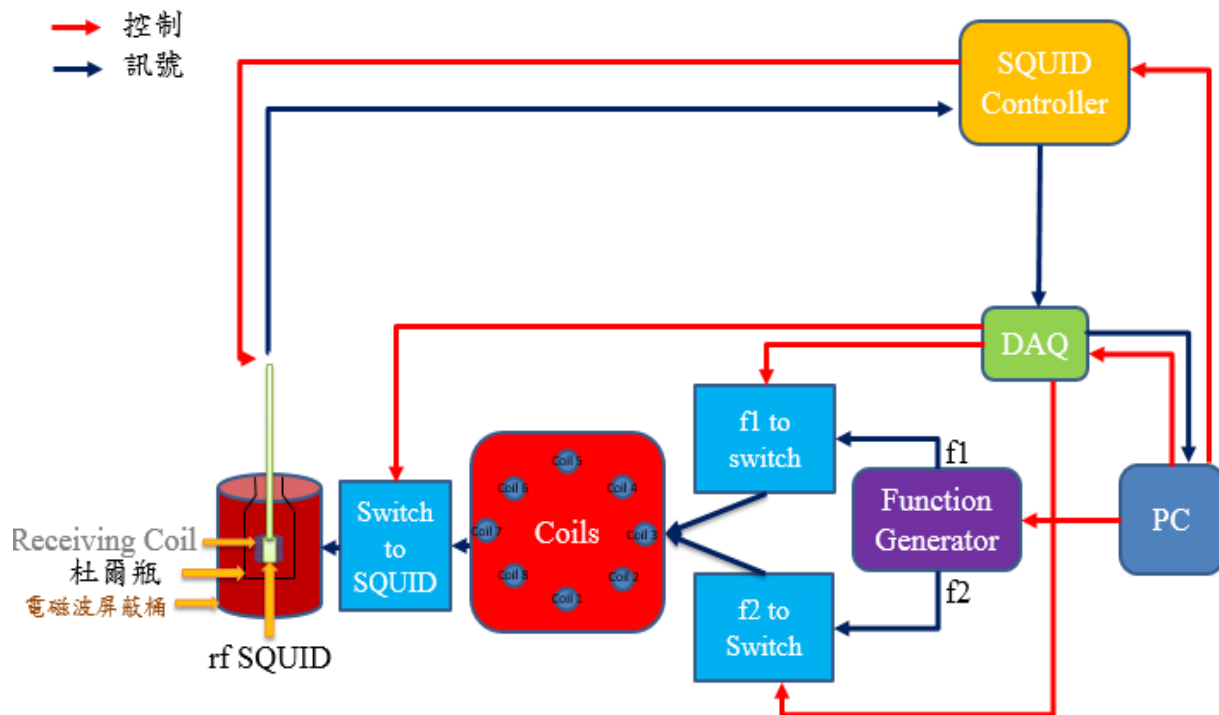
圖八、磁減量百分比(IMR%)對濃度 ϕ_{tau} 標準曲線。

第三章 實驗方法

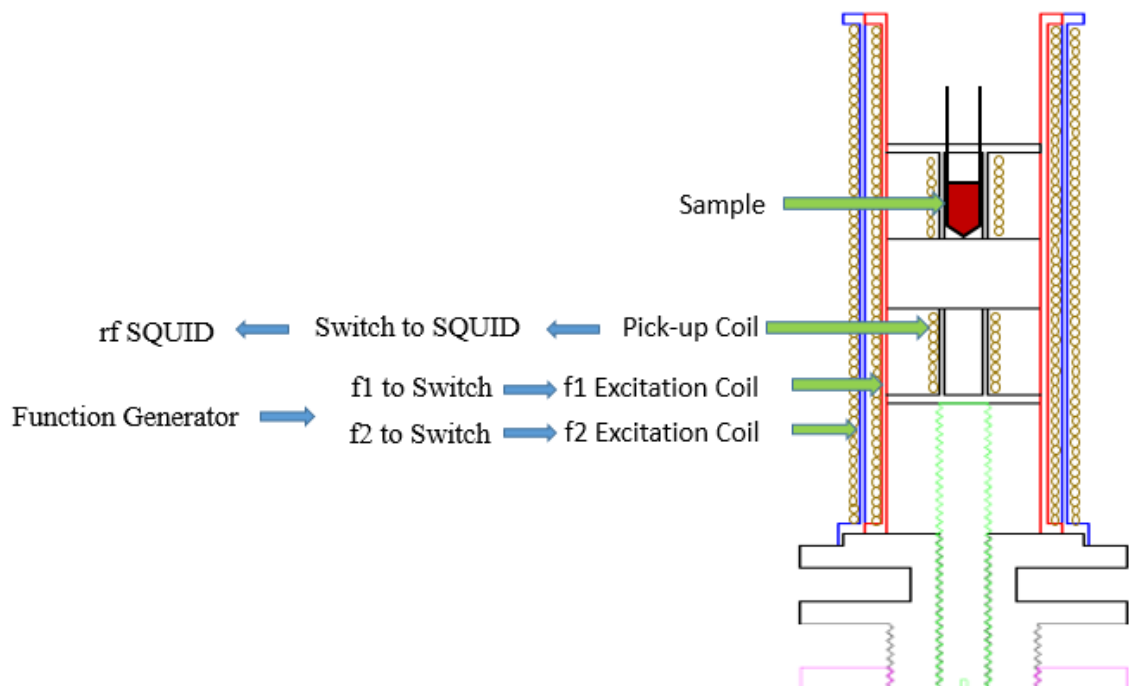
3.1 八通道高溫超導免疫分析儀製作

3.1.1 免疫分析儀架構

此次實驗中，八通道高溫超導免疫分析儀整體架構(圖九)，首先我們使用函數產生器產生兩個頻率(以 f_1 、 f_2 代表)的正弦波電壓，經過 Switch (主要做用為切換線圈)切換至八組激發線圈 (Excitation Coil) 中的其中一組線圈，產生兩種頻率的交流磁場，磁化磁性奈米粒子，磁性奈米粒子產生的混頻交流磁訊號，經由擷取線圈 (Pick-up Coil)接收，再經過 Switch，利用磁通轉換技術將訊號傳至接收線圈(Receiving coil)，如圖十，最後由高溫超導 rf SQUID 感應其 磁通量，為使高溫超導 rf SQUID 呈現超導狀態，我們將高溫超導 rf SQUID 放置於液態氮中，杜爾瓶盛裝液態氮用，再將杜爾瓶放置於電磁波屏蔽桶中，抵擋外界雜訊。將高溫超導 rf SQUID 感應的磁訊號轉換成電壓訊號，傳入資料擷取卡(DAQ)後，經電腦軟體進行快速傅立葉轉換後，顯示出特定混頻頻率下的訊號強度。



圖九. 八通道高溫超導免疫分析儀整體架構，紅色箭頭表示控制，藍色箭頭表示回傳訊號。



圖十. 函數產生器產生兩個頻率(以 f_1 、 f_2 代表)的正弦波電壓，經過 Switch，切換至八組激發線圈(Excitation Coil)中其中一組線圈，產生兩種頻率的交流磁場磁化，磁性奈米粒子，磁性米粒子產生的混頻交流磁訊號，經由擷取線圈(Pick-up Coil)接收，再經過 Switch，利用磁通轉換技術將訊號傳至接收線圈(Receiving coil)。

高溫超導 rf SQUID 無法在充滿雜訊干擾的狀態下進行量測，所以我們製作了電磁波屏蔽桶來隔絕外界雜訊。我們所使用的高溫超導 rf SQUID 放置於電磁波屏蔽桶中，高溫超導 rf SQUID 必須浸泡在液態氮中來維持超導狀態，所以我們使用了一個杜爾瓶儲存液態氮。如此，高溫超導 rf SQUID 放置在杜爾瓶內，杜爾瓶又放在電磁波屏蔽桶中。由圖九可知。

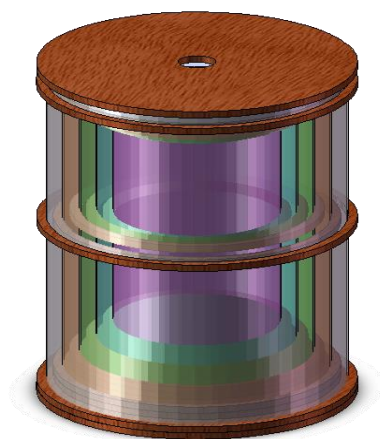
八通道高溫超導免疫分析儀的主要器件有電磁波屏蔽桶、Switch、線圈組、高溫超導 rf SQUID Holder 等，其中 Switch、線圈組、高溫超導 rf SQUID Holder 為我們為改良四通道高溫超導免疫分析儀的器件，各器件的主要功能與特性，在下一節中詳細說明。

3.1.2 免疫分析儀各部器件特性

本節說明八通道高溫超導免疫分析儀各主要器件的功能與特性。

A. 電磁波屏蔽桶

電磁波屏蔽桶(圖十一)主要用來隔絕外界雜訊對高溫超導 rf SQUID 的干擾，在八通道高溫超導免疫分析儀中扮演著極為重要的角色。高溫超導 rf SQUID 對磁訊號非常敏感，為了得到品質好的訊號，我們必須減低外界對 SQUID 的干擾，因此我們必須製作一個具有高度屏蔽效果的電磁波屏蔽桶，將高溫超導 rf SQUID 放置在裡面隔絕雜訊。



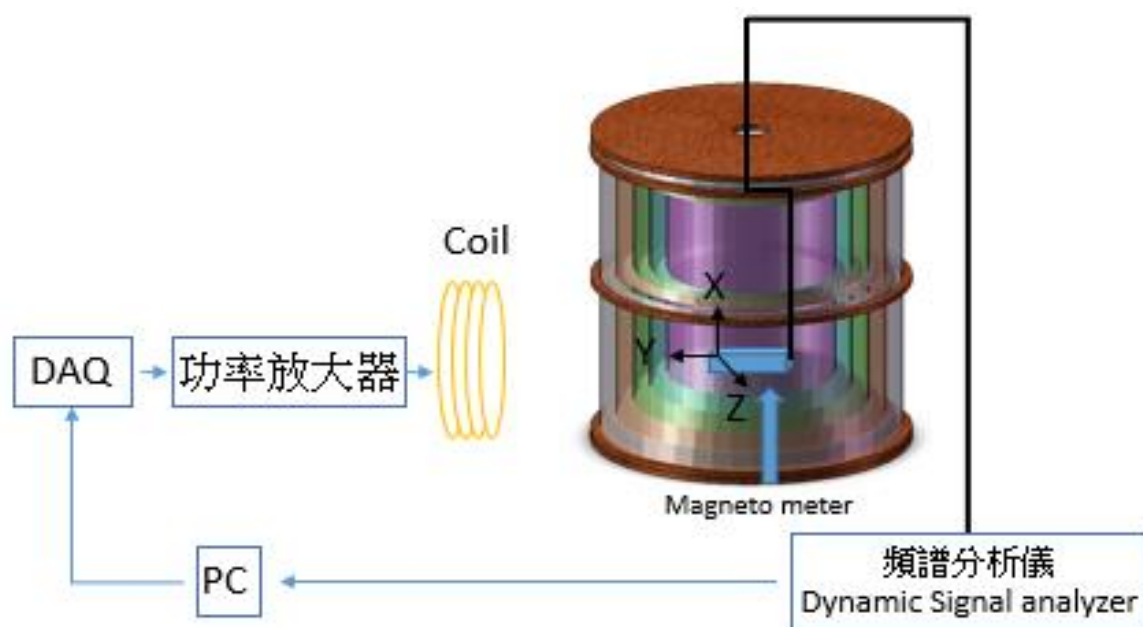
圖十一. 電磁波屏蔽桶外觀示意圖。

電磁波屏蔽桶材料選用，主要為 μ -metal(鐵鈷鎳合金金屬)、鋁金屬材料、銅金屬編織網及碳纖維布。選用這些材料主要是針對外界訊號有效的屏蔽，每種材料都有其屏蔽的頻率區段，比如 μ -metal 用來屏蔽低頻的雜訊，碳纖維布用來隔絕高頻雜訊。我們製作的電磁波屏蔽桶為五層結構，需要注意每一層之間必須絕緣防止各層金屬接觸，各層導通會使屏蔽效果減低，每層的接合處必須密合，以防萬一我們使用導電鋁箔補強，以免電磁波從接合處溢入。我們用屏蔽係數(Shielding Factor，SF)來判定屏蔽桶的屏蔽效果，方程式如下：

$$SF = -20 \log(B_{\text{ref}}/B_{\text{inside}})， \quad (3)$$

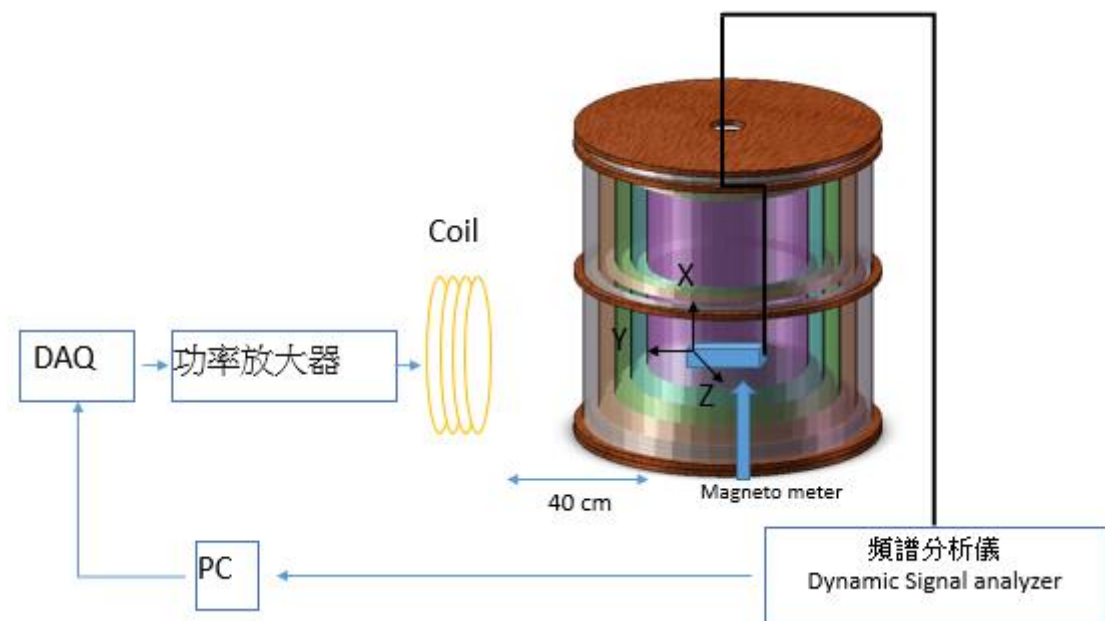
其中 B_{ref} 表示在未屏蔽下量測到的參數， B_{inside} 表示在屏蔽下量測到的參數。

為了量測屏蔽係數，我們製作一個線圈，線圈直徑 25cm，線徑 1.4mm，繞至線圈直徑 40cm，利用電腦控制資料擷取卡(DAQ)輸出固定電流，經由功率放大器傳送給線圈，利用 Magneto meter 接收訊號，經由頻譜分析儀輸入電腦，得到該頻率量測到的值，如圖十二。首先在無電磁波屏蔽桶的環境下用 Magneto meter 測量，掃描頻率 0~1KHz，且同時輸出固定電流供給線圈，得到頻率 0~1KHz 的 B_{ref} ；同樣的條件，將 Magneto meter 放置在電磁波屏蔽桶內，我們可以也可得到一組頻率 0~1KHz 的 B_{inside} 的數據，套用方程式 (3)，我們可以得到隨著頻率變化對應到的屏蔽係數。

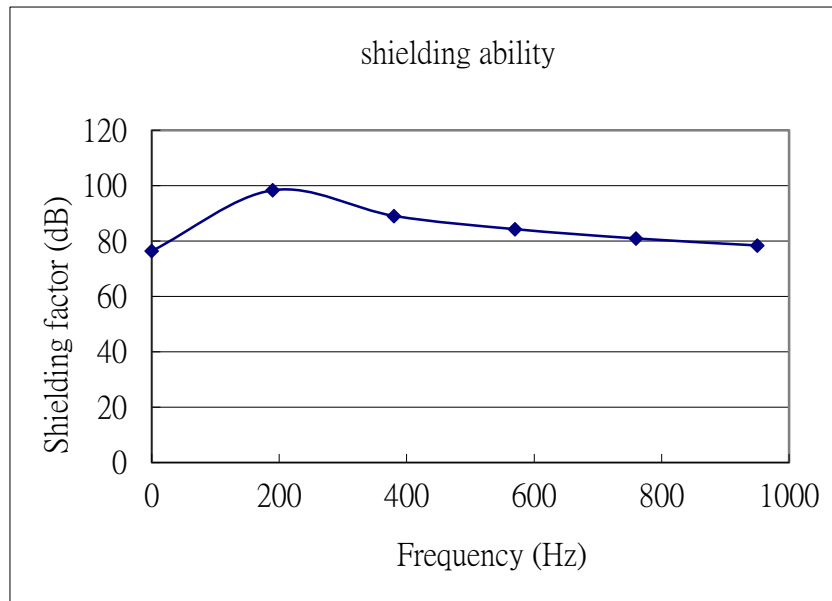


圖十二. Shielding Factor 量測示意圖，使用電腦控制資料擷取卡(DAQ)輸出 0~1KHz 的固定電流，經由功率放大器輸入線圈，經由 Magneto meter 量測，由頻譜分析儀將量測到的結果傳回電腦，即可得到 Shielding Factor。

使用量測屏蔽係數的系統，我們將線圈放置於於屏蔽桶外，距離 Magneto meter 40 cm 處，量測 Shielding Factor，如圖十三。我們得到隨著頻率從 0 Hz 上升到 1000 Hz，屏蔽係數由 80 上升到 100 dB，過了 200 Hz 後，直到 1000 Hz，屏蔽係數由 100 降到 80 dB，由此我們得到，當距離 Magneto meter 40 cm 處時，屏蔽係數為 80~100 dB，如圖十四。

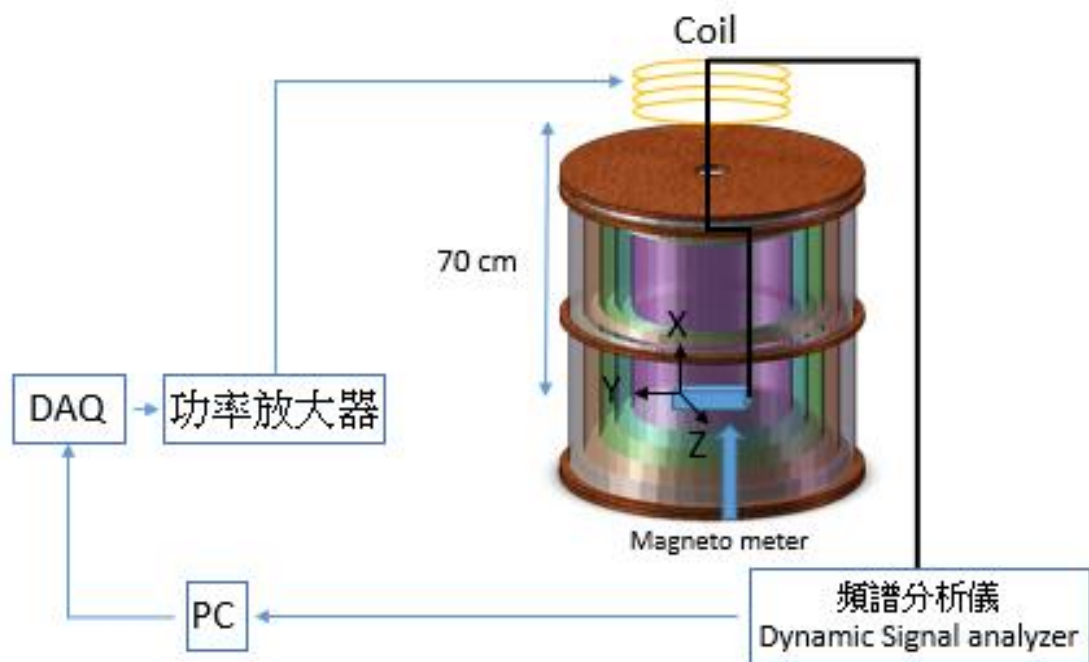


圖十三. Shielding Factor 量測示意圖，將線圈放置於屏蔽桶外，距離 Magneto meter 40 cm 處，量測 Shielding Factor。

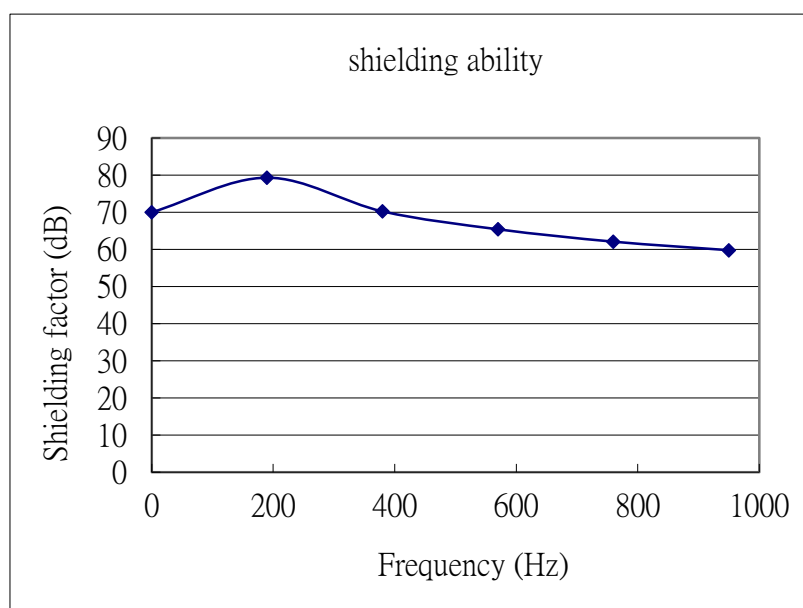


圖十四. 頻率從 0 Hz 上升到 1000 Hz，屏蔽係數在 200 Hz 時上升到 100 dB，而後又降至 80 dB。

使用量測屏蔽係數的系統，我們將線圈放置於於屏蔽桶上，距離 Magneto meter 70 cm 處，量測 Shielding Factor，如圖十五。我們得到隨著頻率從 0 Hz 上升到 1000 Hz，屏蔽係數由 70 上升到 80 dB，過了 200 Hz 後，直到 1000 Hz，屏蔽係數由 80 降到 60 dB，由此我們得到，當距離 Magneto meter 70 cm 處時，屏蔽係數為 60~80 dB，如圖十六。



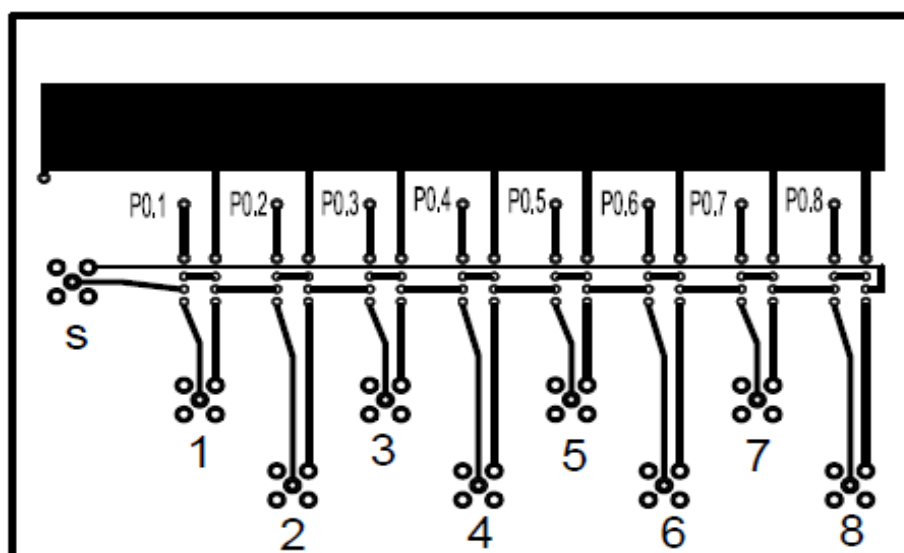
圖十五. Shielding Factor 量測示意圖，將線圈放置於屏蔽桶上，距離 Magneto meter 70 cm 處量測 Shielding Factor。



圖十六. 頻率從 0 Hz 上升到 1000 Hz，屏蔽係數在 0 ~ 200 Hz 時，從 70 dB 上升到 80dB，而後又降至 60dB。

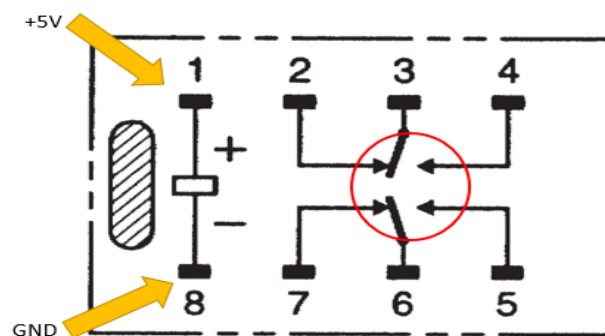
B. Switch

我們從四通道高溫超導免疫分析儀的 Switch 中得到，Switch 只能四支線圈輪流量測，無法做固定一組線圈的量測，也無法跳線圈量測，所以我們又另外製作 Switch 來控制八組線圈的量測方式。電腦可以控制 Switch (圖十七)，控制目前需切換至哪一組線圈，可以八組線圈輪流一起量測，也可以控制某幾組線圈量測，共需要使用三片 Switch。其中 P0.1~P0.8 為資料擷取卡(DAQ)輸出電壓的连接點，Switch 下面的數字為線圈組连接點，其中的 S 則是看板子需求為何，選擇連接 Receiving Coil 或函數產生器。



圖十七. SWITCH 電路板 Layout 示意圖。其中 P0.1~P0.8 為資料擷取卡(DAQ)輸出電壓的连接點，下面的數字為線圈組连接點，其中的 S 則是看板子需求為何，選擇連接 Receiving Coil 或函數產生器。

電路板所選用的 Relay 繼電器為 OMRON G6K-2P-Y-4.5V，圖十八為 Relay 繼電器示意圖，繼電器初始為 2-3、7-6 是導通的，當電源輸出時，則變為 3-4、5-6 導通。我們使用的 Switch 電路板，一片電路板所需繼電器為八顆，一台資料擷取卡(DAQ)需要輸出三片 Switch 的電壓量，資料擷取卡(DAQ)的電源輸出又是從電腦來的電源，所需電流有限制，所挑選的繼電器為符合資料擷取卡(DAQ)最大輸出電壓量，故選用此繼電器，當切換通道時，資料擷取卡(DAQ)在該通道的繼電器，輸出大於 3.3V 即可工作。



圖十八. Relay 繼電器示意圖，繼電器初始為 2-3、7-6 是導通的，當電源輸出時，則變為 3-4、5-6 導通。

C. 線圈組

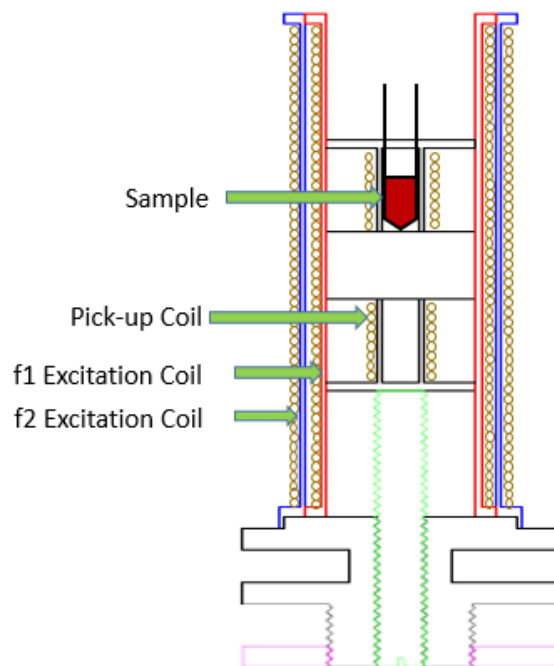
線圈組在高溫超導免疫分析儀扮演著非常重要的角色，每組線圈的品質，關係到我們系統的訊號穩定性和高溫超導 rf SQUID 感應，以便增加靈敏度。

在四通道中線圈組長度過常，必須使用手工繞線的方式才能將線圈製作完成，所以我們決定將線圈組的長度縮短二分之一，使用繞線機即可快速完成繞線，其中繞線層數也必須重新調整，這使八通道在製作過程中的時間縮短了很多，且所占空間也小了一倍。

線圈組包含擷取線圈(Pick-up Coil)、兩種頻率(以 f_1 、 f_2 代表)的激發線圈(Excitation Coil)、接收線圈 (Receiving Coil)。

激發線圈以 f_1 、 f_2 代表，對整體構造而言一內一外組合而成，如圖十九， f_1 、 f_2 激發線圈負責接收函數產生器輸出的訊號，以混頻交流的方式驅動磁性奈米粒子，目的在得到較高的 SNR(Single Noise Rate)，使量測樣品時增加靈敏度，在後續分析樣品時，其特性也能夠清楚觀察到磁減量。

擷取線圈(Pick-up Coil)為最內層線圈。構造為兩端反方向繞線的法拉第線圈，此機制用於減低雜訊，使量測時受外界干擾減到最低，量測時更加精準，經由訊號線連結，和接收線圈 (Receiving Coil)連接在一起。



圖十九. 線圈整體示意圖。激發線圈以 f1、f2 代表，對整體構造而言一內一外組合而成激發線圈以 f1、f2 代表，對整體構造而言一內一外組合而成，擷取線圈為最內層線圈。

(1) Pick-up Coil 製作

A. 0.3 mm 漆包線上下各繞三層。

B. 利用 RLC Meter

工作頻率下時量測：

電感 0.1 ± 0.05 mH、電阻 1.4 ± 0.05 Ohm。

(2) Excitation coil (f1)製作

A. 0.3 mm 漆包線繞兩層。

B. 利用 RLC Meter

工作頻率下時量測：

電感 3 ± 0.5 mH、電阻 17 ± 0.5 Ohm。

(3) Excitation coil (f2)製作

A. 0.3 mm 漆包線繞兩層。

B. 利用 RLC Meter

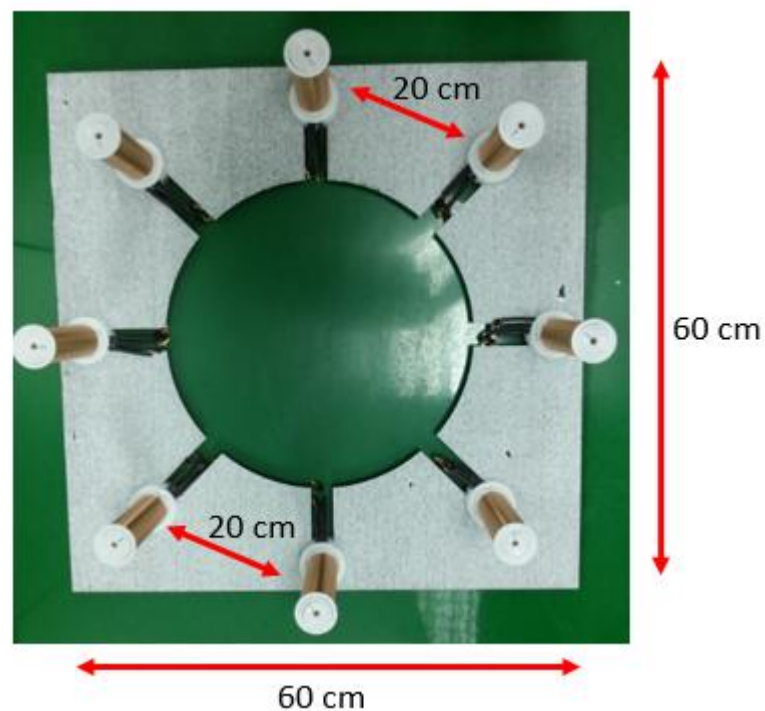
工作頻率下時量測：

電感 4 ± 0.05 mH、電阻 18 ± 0.5 Ohm。

將三層依照 Pick-up Coil - Excitation coil (f1) - Excitation coil (f2)

從內到外組裝起來，如圖十九。

為了得到正確且重複性高的訊號，每組線圈距離決定了互相干擾的程度，組裝起來的線圈，我們以放射狀方式擺放，參考四通道高溫超導免疫分析儀研製⁷，我們得知當線圈距離大於 10 公分的時候，線圈間幾乎沒有干擾訊號，我們得到這個距離參數後，為將系統彼此干擾情況減至最低，我們設定八通道高溫超導免疫分析儀線圈組的距離參數最小為 20 公分，最大有至 60 公分，如圖二十，線圈間幾乎沒有干擾。



圖二十. 線圈位置距離擺放方式，每組線圈最小距離 20 公分，最大距離 60 公分，線圈間幾乎沒有干擾訊號。

接收線圈套在高溫超導 rf SQUID 外圍(圖二十一)，接收擷取線圈所產生的感應電動勢，同時接收線圈也產生感應電動勢，經由高溫超導 rf SQUID，感應其磁通量，因此我們可以量測到擷取線圈所感應到的訊號。

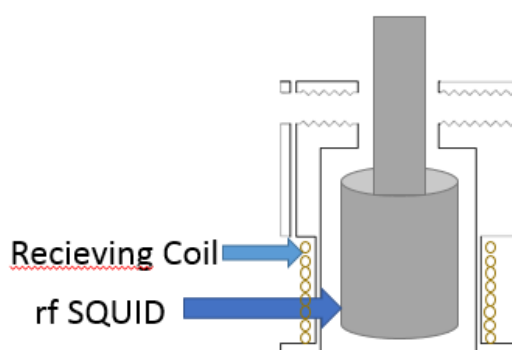
(4) 接收線圈 (Receiving Coil)製作

A. 0.37 mm 漆包線繞 20 層。

B. 利用 RLC Meter

工作頻率下時量測：

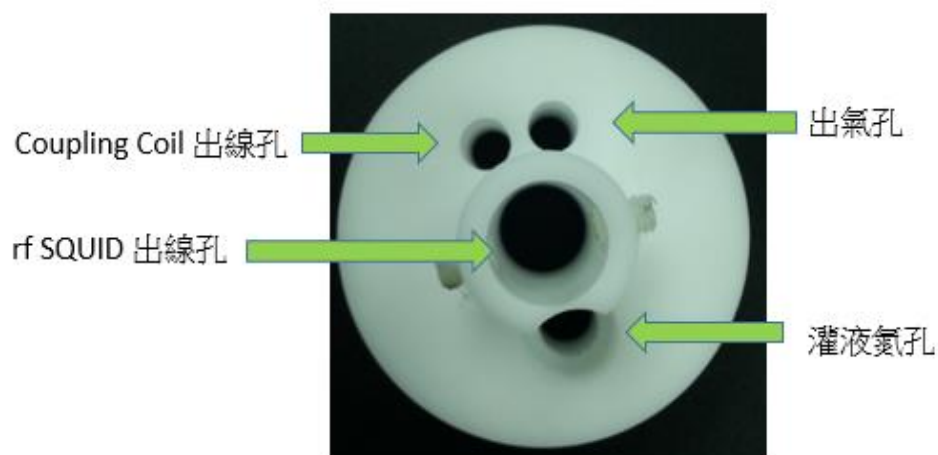
電感 26 ± 0.5 mH、電阻 45 ± 0.5 Ohm。



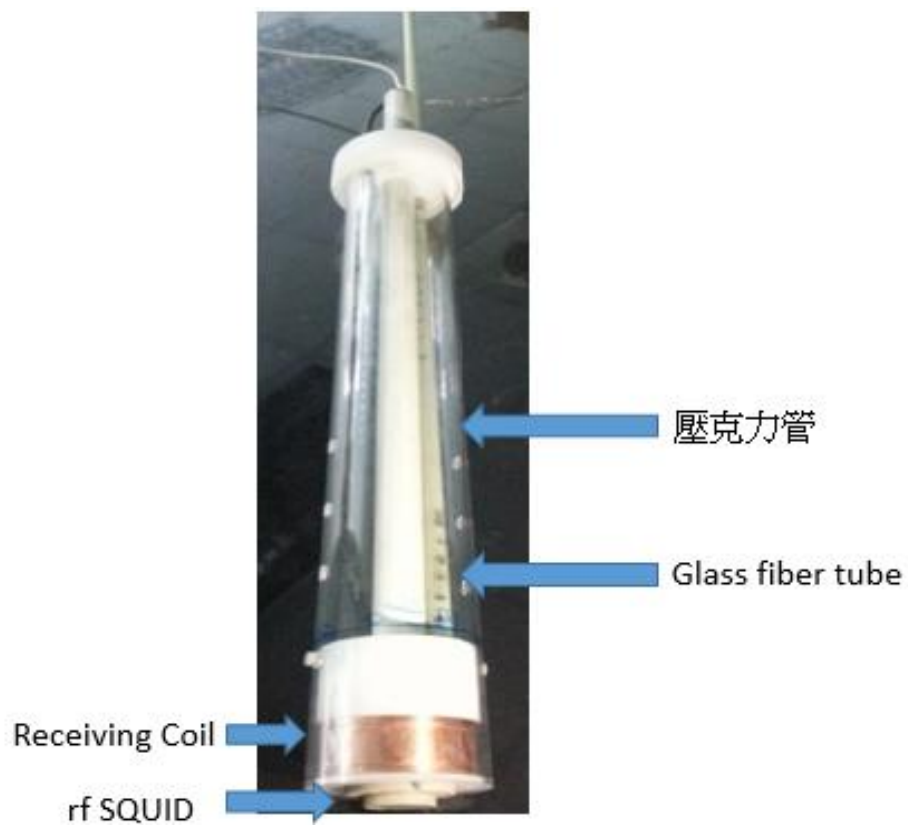
圖二十一. 接收線圈 (Receiving Coil)。線圈內為 rf SQUID，經由高溫超導 rf SQUID，感應其磁通量，可以量測到擷取線圈所感應到的訊號。

D. rf SQUID Holder 製作

rf SQUID Holder 製作時，因為之前有發現四通道與單通道灌液氮後，會經常結冰，所以我們重新設計了 rf SQUID Holder 出線方式，我們使用壓克力管固定接收線圈 (Receiving Coil)，製作時 rf SQUID Holder 必須預留灌液態氮的孔洞、出氣孔、Coupling coil 出線孔、高溫超導 rf SQUID 出線孔，如圖二十二。為了灌液氮時液氮可以均勻地在杜爾瓶內，故壓克力管必須預留液態氮進出的孔洞，如圖二十三，液態氮從 Glass fiber tube 加入之後會經由壓克力管壁上的孔洞流出，使高溫超導 rf SQUID 能處於超導狀態。



圖二十二. rf SQUID Holder 上視實體圖。



圖二十三. rf SQUID Holder 實體圖，壓克力管必須要打洞，液態氮從 Glass fiber tube 加入之後會經由壓克力管壁上的孔洞流出，使高溫超導 rf SQUID 能處於超導狀態。

E. 電腦軟體操作介面

本軟體為磁量生技以 Labview 系統所開發，搭配八通道高溫超導免疫分析儀，配合控制高溫超導 rf SQUID、函數產生器、資料截取卡(DAQ)等儀器，需和整套八通道高溫超導免疫分析儀系統做統合。當軟體啟動之後，進入設定存檔參數、開始量測後會開始掃描線圈組，執行中皆可中途離開，量測完成後會自動存檔。軟體中另外有一校正模式，可以進入調整每組線圈的 $\chi_{ac,SNR}$ ，完成調整後可以再回到開始量測。

操作流程如下：

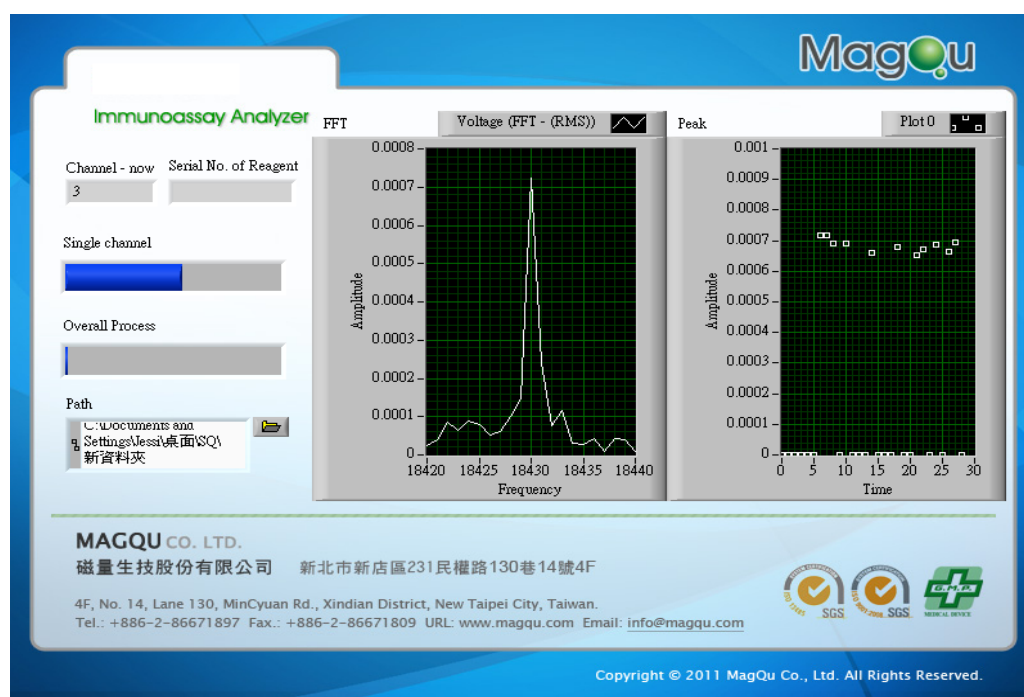
1. 開啟電腦後，執行 XacPro-S.exe，點選”Start”按鈕進入量測選項。



2. 選擇要量測的通道，輸入該通道所要量測的檔案名稱及選擇檢體。



3. 點選”Start”開始執行後，程式會開始掃描八通道，每通道約 2 分鐘，一輪為八組通道跑完一次，共 20 輪，總時間約 300 min.，如下圖所 示，直到掃描結束並自動存檔。

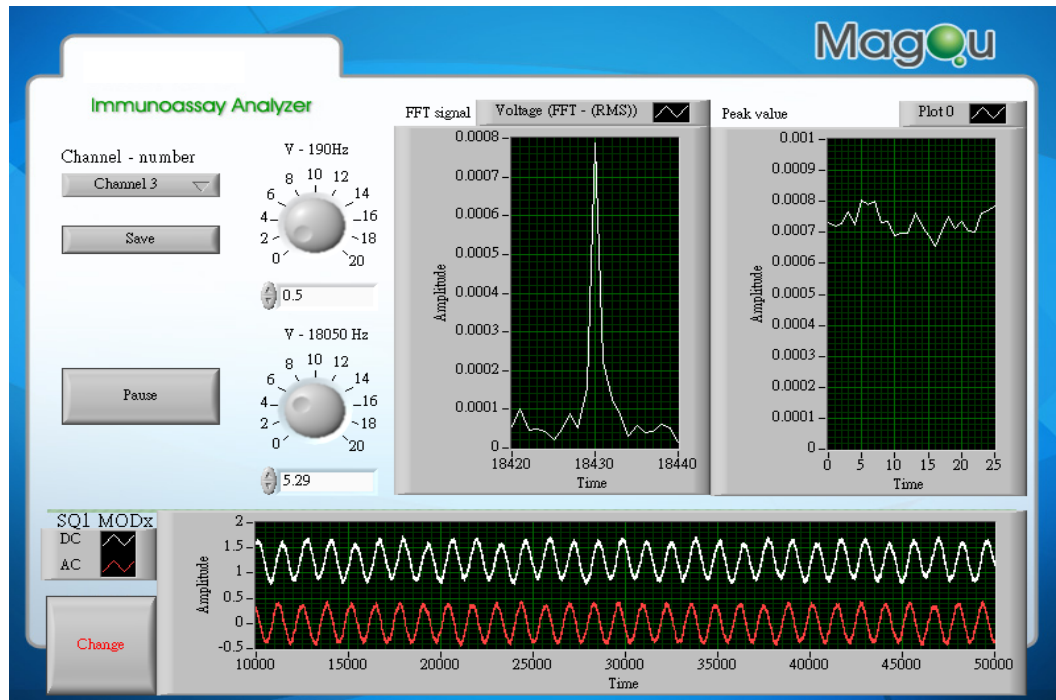


校正程序如下：

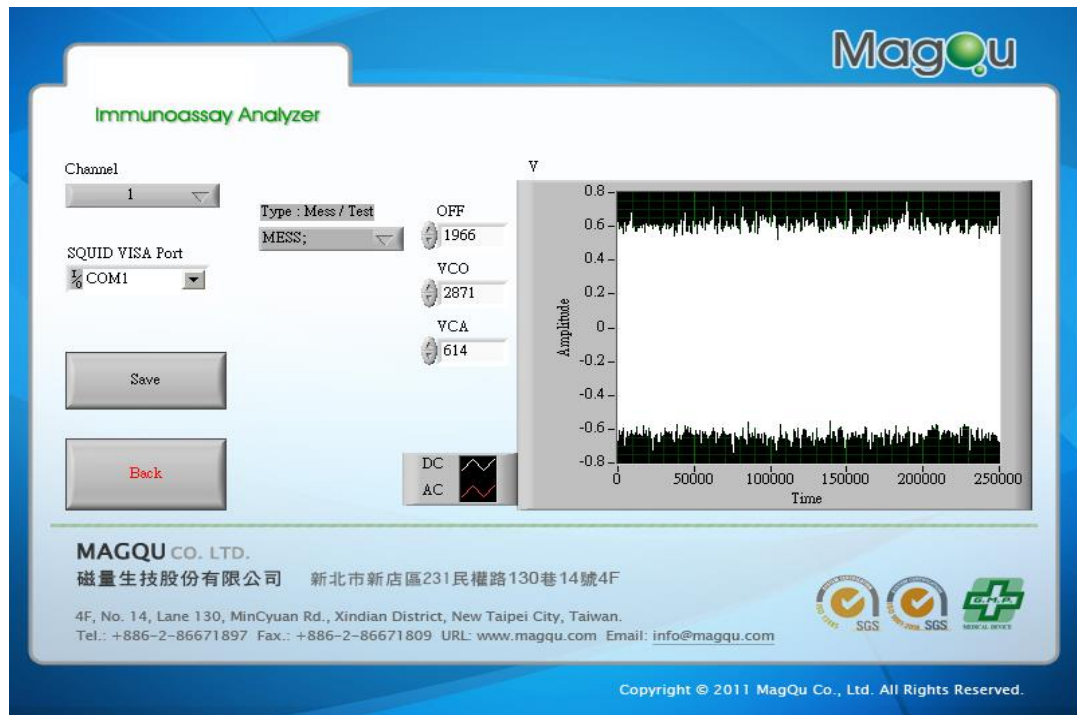
1. 執行 XacPro-S.exe 程式後進入校正程序，如下圖所示。



2. 點選左上角” Channel - number” 可以切換目前通道，中間二顆旋扭為雙頻訊號大小調整扭，亦可直接輸入，設定完即可按壓儲存鍵儲存參數。亦可按壓左下方之轉換扭切換控制模式。



3. 當控制模式換成高溫超導 rf SQUID 參數控制時(如下圖所示)，可以調整 OFF、VCO、VCA 三組參數，在調整完後可按儲存鈕儲存參數。



3.2 Tau 蛋白磁減量檢驗程序

儀器經過組裝、測試完成後，接著會進行確認 Tau 蛋白磁減量結果量測階段。為了確認每一組線圈對於 Tau 蛋白，在同一濃度下的 IMR 變化量的差異性，我們必須預計量測一樣品，在已知濃度 100 pg/ml 下，試劑為表面接上抗體的 anti-Tau MF 和待測物 Tau 蛋白抗原，磁減量結果相關度，其檢測程序如下：

1. 從 4°C 冰箱拿出試劑 anti-Tau MF，在室溫下放置 5 分鐘使其回溫。
2. 從 -20°C 冰箱取出 Tau 蛋白待測物，在碎冰上回溫 30 分鐘，最後再回溫至 25°C。
3. 使用微量分注器取出 10 mg-Fe/ml 的 anti-Tau MF 80 μ l 加入玻璃試管中。
4. 使用微量分注器取出 100 pg/ml 的 Tau 蛋白 40 μ l 加入玻璃試管中，此即待測溶液。
5. 利用漩渦震搖器震盪待測溶液一分鐘。
6. 將樣品放入八通道高溫超導免疫分析儀系統中量測。
7. 反應結束後，重新配置樣品重複步驟 1~6。

在所量測到 χ_{ac} 值中，可分析磁珠為與待測分子結合前的 χ_{ac} 大小(以 $\chi_{ac,0}$ 代表)，以及磁珠與待測分子結合後的 χ_{ac} 大小(以 $\chi_{ac,\phi}$ 代表)，進一步得到磁減量百分比 IMR(%)：

$$\text{IMR}(\%) = \frac{\chi_{ac,0} - \chi_{ac,\phi}}{\chi_{ac,0}} \times 100\% \quad (2)$$

第四章 實驗結果

4.1 八通道高溫超導免疫分析儀特性

在八通道高溫超導免疫分析儀中，我們確認了八組線圈電感、電阻條件，還有調整每組線圈的相對位置，所以我們必須調整每一組線圈，經由函數產生器輸出之後的條件處於相同的狀態下，我們先確認八組線圈訊號對量測樣品的訊號強度，故我們使用標準品為 80 μl 的 10 mg-Fe/ml 磁性流體加上 40 μl 的 PBS 酸鹼值 7.4 (PH 7.4)，量測各別線圈的無樣品值($\chi_{ac,background}$)與樣品值($\chi_{ac,Sample}$)，得到交流磁訊號的訊雜比($\chi_{ac,SNR}$)。我們定 $\chi_{ac,SNR}$ 值必須超過 10，可以看到明顯的線圈訊號對量測樣品的訊號強度。

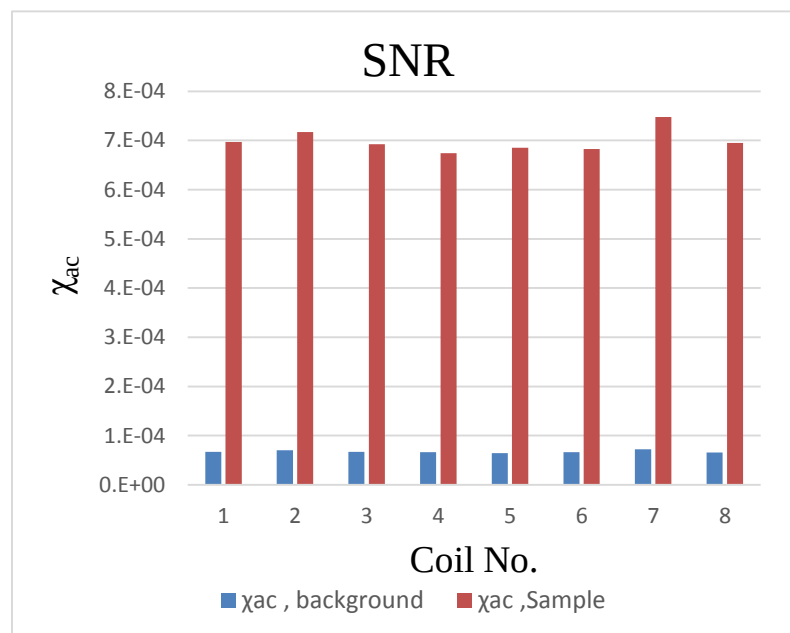
交流磁訊號訊雜比 (Signal-to-noise ratio, SNR)方程式如下：

$$\chi_{ac,SNR} = \frac{\chi_{ac,Sample}}{\chi_{ac,background}}。 \quad (4)$$

量測方法為使用標準品為 80 μl 的 10 mg-Fe/ml 磁性流體加上 40 μl 的 PBS 酸鹼值 7.4(PH 7.4)，量測個別線圈的無樣品值($\chi_{ac,background}$)與樣品值($\chi_{ac,Sample}$)，無樣品值($\chi_{ac,background}$)與樣品值($\chi_{ac,Sample}$)皆量測一分鐘，套入上述中交流磁訊號訊雜比($\chi_{ac,SNR}$)的方程式(4)，最後得到八組線圈的交流磁訊號訊雜比，如表一，圖二十五。

Coil No.	1	2	3	4	5	6	7	8
SNR	10.35	10.15	10.34	10.12	10.65	10.26	10.22	10.52

表一. 八組線圈交流磁訊號訊雜比($\chi_{ac,SNR}$)，我們定了八組線圈的交流磁訊號訊雜比($\chi_{ac,SNR}$)在 10 以上，使用的標準品為 80 μ l 的 10 mg-Fe/ml 磁性流體加上 40 μ l 的 PBS 酸鹼值 7.4(PH 7.4)，經過調整運算後得到交流磁訊號訊雜比 ($\chi_{ac,SNR}$) 10 以上。



圖二十五. 八組線圈的無樣品值($\chi_{ac,background}$)與樣品值($\chi_{ac,Sample}$)。

八通道高溫超導免疫分析儀(圖二十六)量測方法，在完成上述中的檢驗後，即可開始做樣品測試，打開程式後，點選量測開始，從第一組線圈開始量測 2 min.，經由 Switch 電路板切換至第二組線圈，最後切換至第八組線圈後，再切回第一組線圈繼續掃通道，直到設定量測時間為 300 min.，量測結束後自動儲存檔案。



圖二十六. 八通道高溫超導免疫分析儀

4.2 Tau 蛋白磁減量結果

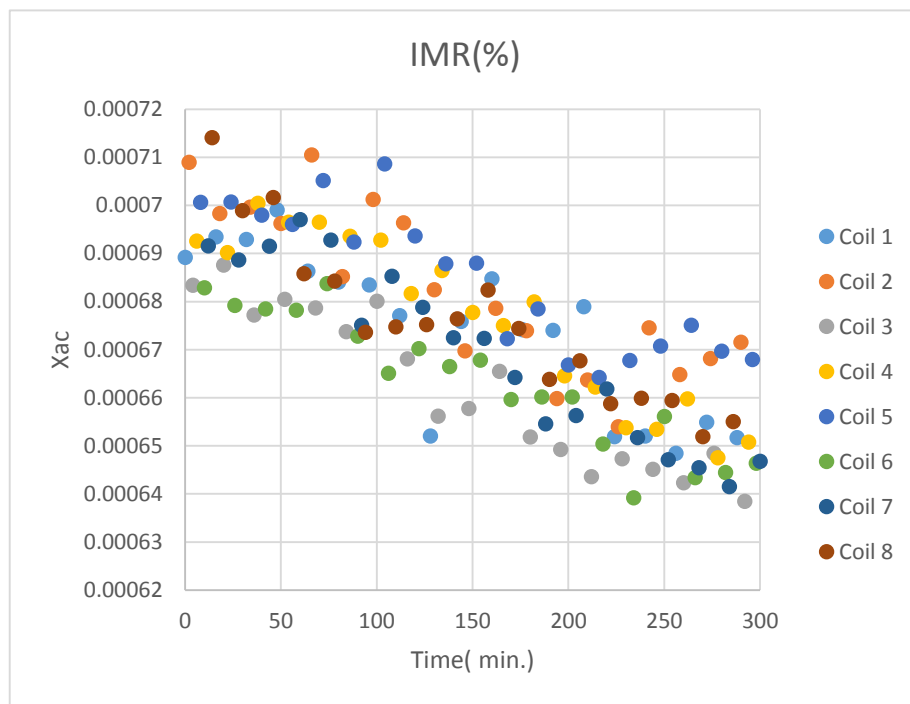
本研究中，我們先確認了每組線圈的訊雜，接著再確認每一組線圈對於 Tau 蛋白，在同一濃度下的 IMR 變化量的差異性，參考 3.2 Tau 蛋白磁減量檢驗程序，我們使用 Tau 蛋白濃度為 100 pg/ml，試劑為批覆 antibody Tau 蛋白的奈米磁性流體，將其混和後放入檢測系統量測，我們觀察到八組線圈在其 50 min. 間 χ_{ac} 維持在一個變化區間內，在 80~100 min. 之間可以發現 χ_{ac} 逐漸下降，到了 250 min. 之後發現 χ_{ac} 維持在一個變化區間內，我們稱前 50 min. 為 $\chi_{ac,0}$ ，而 80~100 min. 之間為反應時間，其值會因為磁力子叢集增加使 χ_{ac} 值會慢慢下降直到 250 min. 之後反應完全，磁力子叢集形成會趨於一個穩定狀態，我們稱其為 $\chi_{ac,\phi}$ ，計算 IMR 變化量為下面這個公式，

$$\text{IMR}(\%) = \frac{\chi_{ac,0} - \chi_{ac,\phi}}{\chi_{ac,0}} \times 100\% \quad (2)$$

因此我們可以計算得到八組線圈 IMR(%) 變化量，如表二。八組線圈量測濃度為 100 pg/ml 的 Tau 蛋白 IMR 反應圖為圖二十七所示。在各線圈中 IMR(%) 差異非常微小，因此在量測方面確定了重複性相當高。

Coil No.	1	2	3	4	5	6	7	8
IMR	5.02%	4.96%	5.27%	5.36%	4.81%	4.78%	6.78%	5.79%

表二. 八組線圈 IMR(%)變化量。



圖二十七. 八組線圈量測濃度為 100 pg/ml 的 Tau 蛋白 IMR 反應圖。

第五章 結論

八通道高溫超導免疫分析儀用在磁性標記免疫檢測法的各種量測上，其靈敏度在各量測儀器中數一數二，而且不需要很多複雜的前置作業，現在常用的免疫檢測方法眾多，但大多需要繁雜的檢測流程，而且並非每一種非常穩定，如 ELISA 必須將抗體固定在孔盤上。磁性標記檢測法只需將待測樣品放入試劑中即可量測，量測結果也不受待測物本身光學特性影響。

八通道高溫超導免疫分析儀為了符合量測速率的需求，提高檢測通道，使日益增長的檢測量需求暫且得到滿足。在實驗過程中，也藉著增進四通道的效能，改變了一些器件，在 Switch 中我們改變了電路板的電路圖及繼電器元件，將原本四通道中只能全部四組線圈一起掃描的方式，改變成八組線圈可以一起掃描，也可以個別掃描，增加了量測上的彈性；也改變了線圈組的長度，將原本四通道線圈組的長度縮短二分之一，改善了原本需要花費很多人工及時間的問題，在日後如需要量產製作的時候，能夠將時間縮短很多，且空間方面也占了比較小的空間；接線方面，也將 BNC 接頭換成屏蔽效果較佳的鍍金 SMA 接頭。目前八通道高溫超導免疫分析儀成了如要量測多種樣品時最好的選擇，只需要簡易的方法配合上試劑即可得到結果，非常符合生物醫學快速簡便的要求。

參考文獻

1. 楊鴻昌,〈最敏感的感測元件 SQUID 及其前瞻性應用〉,《物理雙月刊》,第 24 卷,第 5 期,第 652 – 665 頁,2002 年 10 月。
2. 楊鴻昌,〈最敏感的感測元件 SQUID 及其前瞻性應用〉,《物理雙月刊》,第 24 卷,第 5 期,第 652 – 665 頁,2002 年 10 月。
3. 楊鴻昌,〈認識超導量子干涉元件(SQUID)〉,《物理雙月刊》,第 11 卷,第 5 期,第 454 – 457 頁,1989 年 10 月。
4. A. H. Silver and J. E. Zimmerman, “Quantum transitions and loss in multiply connected superconductors,” Phys. Rev. Lett., vol. 15, pp. 888–891, Dec. 1965.
5. Che-Chuan Yang, Shieh-Yueh Yang,,Jen-Jie Chieh, Herng-Er Horng, Chin-Yih Hong,Hong-Chang Yang, K. H. Chen, B. Y. Shih, Ta-Fu Chen, and Ming-Jang Chiu,"Biofunctionalized Magnetic Nanoparticles for Specifically Detecting Biomarkers of Alzheimer's Disease in Vitro,"ACS Chem. Neurosci. 2011, 2, 500–505.
6. J. J. Chieh, S. Y. Yang, Z. F. Jian, W. C. Wang, and H. E. Horng,"Hyper-high-sensitivity wash-free magneto reduction assay on biomolecules using high-Tc superconducting quantum interference devices",JOURNAL OF APPLIED PHYSICS 103, 014703 2008 .
7. 磁性奈米粒子在體外的應用, 楊謝樂。
8. 磁性奈米粒子於生物醫學上之應用, 楊謝樂。
9. Ming-Jang Chiu,Ya-Fang Chen,Ta-Fu Chen, Shieh-Yueh Yang,Fan-Pei Gloria Yang, Tien-Wen Tseng, Jen-Jie Chieh, Jia-Chun,Rare Chen,Kai-Yuan Tzen,Mau-Sun Hua,and Herng-Er Horng,"Plasma Tau as a Window to the Brain—Negative Associations With Brain Volume and Memory Function in Mild Cognitive Impairment and Early Alzheimer's Disease”, Human Brain Mapping 00:00–00 (2013).

10. M. J. Chiu, H. E. Horng, J. J. Chieh, S. H. Liao, C. H. Chen, B. Y. Shih, C. C. Yang, C. L. Lee, T. F. Chen, S. Y. Yang, C. Y. Hong, and H. C. Yang, "Multi-Channel SQUID-Based Ultra-High-Sensitivity In-Vitro Detections for Bio-Markers of Alzheimer's Disease Via Immunomagnetic Reduction," IEEE, VOL. 21, NO. 3, JUNE 2011.
11. S.Y. Yang, J.J. Chieh, W.C. Wang, C.Y. Yu, C.B. Lana, J.H. Chen, H.E. Horng, Chin-Yi Hong, H.C. Yang, Wilber Huang, "Ultra-highly sensitive and wash-free bio-detection of H5N1 virus by immunomagnetic reduction assays", Journal of Virological Methods 153 (2008) 250–252
12. J. J. Chieh, Shieh-Yueh Yang, Heng-Er Horng, C. Y. Yu, C. L. Lee et al., "Immunomagnetic reduction assay using high-Tc superconducting quantum-interference-device-based magnetosusceptometry", JOURNAL OF APPLIED PHYSICS 107, 074903 2010 .
13. C. C. Yang, K. W. Huang, S. Y. Yang, H. H. Chen, T. C. Chen, C. S. Ho, S. F. Chang, J. J. Chieh, H. E. Horng, C. Y. Hong, and H. C. Yang, "Development for High-Accuracy In Vitro Assay of Vascular Endothelial Growth Factor Using Nanomagnetically Labeled Immunoassay", Journal of Nanomaterials Volume 2013, Article ID 695276, 7 pages.
14. Chin.Yih.Hong, Hong, C.C.Wu, Y.C.Chui, S.Y.Yang, H.E.Horn, and H.C.Yang, "Magnetic susceptibility reduction method for magnetically labeled immunoassay", Appl. Phys. Lett., 88, 212512 (2006).
15. C.Y.Hong, W.H.Chen, C.F.Chien, S.Y.Yang, H.E.Horng, L.C.Horng, L.C.Yang, and H.C.Yang, Appl.phys.Lett., 90, 74105, (2007).
16. 物理雙月刊(二十八卷四期)2006 年 8 月 697。
17. H.W.Davies, and J.Patrick Llewellyn, J.Phys.D., 12, 1357, (1979).
18. S.Y.Yang, J.S.Sun, C.H.Liu, Y.H.Tsuang, L.T.Chen, C.Y.Hong, H.C.Yang, and H.E.Horng, Artificial Organs, 32, 195, (2008).
19. H.E.Horng, S.Y.Yang, C.M.Liu, P.-S.Tsai, C.Y.Hong, H.C.Yang, and C.C.Wu, Appl.Phys.Lett., 88, 252506, (2006).
20. "User Manual for JSQ rf SQUID Magnetometer and rf SQUID Electronic with Touch Panel Controller 1 channel SQUID System", JSQ.