



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101309856 B

(45) 授权公告日 2011.02.09

(21) 申请号 200680030808.8

(22) 申请日 2006.06.23

(30) 优先权数据

10-2005-0054516 2005.06.23 KR

10-2006-0052726 2006.06.12 KR

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008.02.22

(86) PCT申请的申请数据

PCT/KR2006/002440 2006.06.23

(87) PCT申请的公布数据

WO2006/137716 EN 2006.12.28

(73) 专利权人 徐京植

地址 韩国光州

专利权人 金政焕

(72) 发明人 徐京植 金政焕

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司 11021

代理人 周国城

(51) Int. Cl.

B82B 3/00(2006.01)

(56) 对比文件

US 6621575 B1, 2003.09.16, 全文.

US 6689338 B2, 2004.02.10, 全文.

US 6878693 B2, 2005.04.12, 全文.

审查员 杨艳

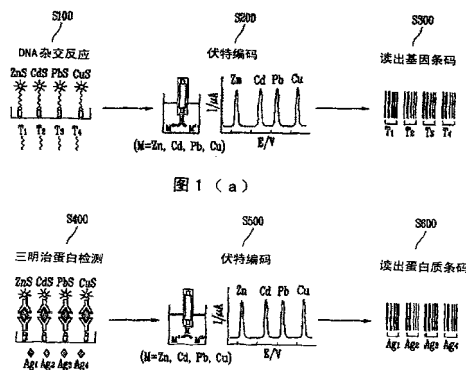
权利要求书 4 页 说明书 19 页 附图 11 页

(54) 发明名称

纳米粒子标记物、用该纳米粒子标记物的诊断方法及用该纳米粒子标记物的诊断试剂套件与设备

(57) 摘要

本发明揭露一种诊断试剂套件,包括一纳米粒子生物材料复合物、一抽取溶液、一收集电极以及一电流峰值测量单元。此纳米粒子生物材料复合物包括:一或多个纳米粒子,其是选自自由锌、镉、铅、铜、镓、砷、铊、镍、锰及铋所组成的金属群组;一个或多个生物结合材料是透过结合安定剂与该纳米粒子结合,并特别与要检测的生物材料结合;以及一结合安定剂在该纳米粒子和该生物结合剂之间形成键结。此抽取溶液是自该纳米粒子生物材料复合物中离析及抽取出纳米粒子。此收集电极是收集来自抽取溶液的纳米粒子。此电流峰值测量单元是用以测量在收集电极所收集到的该等纳米粒子的电流峰值。



CN 101309856 B

1. 一种纳米粒子-生物材料复合物,其特征在于包括:

一或多个纳米粒子,其是选自由锌、镉、铅、铜、镓、砷、铊、镍、锰及铋所组成的金属群组;

一特定生物材料,该生物材料是选择自具有核酸的群组,包含脱氧核糖核酸或核糖核酸、氨基酸、核酸-氨基酸复合物、脂肪、糖蛋白、信号物质,其包含 Ca^{2+} 、cAMP、cGMP、 IP_3 及 DAG,以及抗体;以及

一结合安定剂,包含一聚合物链,其一端具有一可使安定剂连结至该纳米粒子电荷特性能力的取代基,以及相对另一端具有多个水溶性取代基,其中该结合安定剂透过该具有一可使安定剂连结至该纳米粒子电荷特性能力的一端的取代基与纳米粒子连结,透过多该水溶性取代基稳定该纳米粒子,以及透过多该水溶性取代基与该生物材料产生键结

2. 根据权利要求1所述的纳米粒子-生物材料复合物,其特征在于,该纳米粒子是以金属硫化物形式存在。

3. 根据权利要求1所述的纳米粒子-生物材料复合物,其特征在于,该纳米粒子是由一个或多个选自由锌、镉、铅及铜所组成的金属群组所制成。

4. 根据权利要求1所述的纳米粒子-生物材料复合物,其特征在于,该纳米粒子是由二个或多个纳米粒子互相连结所形成的纳米粒子复合物。

5. 根据权利要求1所述的纳米粒子-生物材料复合物,其特征在于,该结合安定剂为二硫苏糖醇或二氢硫辛酸。

6. 根据权利要求1所述的纳米粒子-生物材料复合物,其特征在于,该结合安定剂是利用一活性剂活性化,且该经活性化的结合安定物质是与该生物材料形成一键结。

7. 根据权利要求6所述的纳米粒子-生物材料复合物,其特征在于,该活性剂为1,1-羰基二咪唑。

8. 根据权利要求6所述的纳米粒子-生物材料复合物,其特征在于,位于该结合安定剂以及该生物材料间的该键结为氨基甲酸酯键。

9. 一种制备纳米粒子的方法,该纳米粒子是用以标记生物材料,其特征在于该方法包括下列步骤:

容许十六烷醇、氢氧化钾及二硫化碳互相反应,以制备一十六醇黄酸钾盐;

容许所获得的该十六醇黄酸钾盐与一个或多个纳米粒子反应,该纳米粒子是选自一由锌、镉、铅、铜、镓、砷、铊、镍、锰及铋所组成的金属群组,以制备十六醇黄酸金属硫化物纳米粒子;以及

容许该十六醇黄酸金属硫化物纳米粒子与一烷基胺掺杂物反应,以制备金属硫化物纳米粒子。

10. 根据权利要求9所述的方法,其特征在于,该纳米粒子是由一个或多个选自由锌、镉、铅及铜所组成的金属群组所制成。

11. 根据权利要求9所述的方法,其特征在于,该制备该十六醇黄酸钾盐包括下列步骤:

混合该十六烷醇与一氢氧化钾,并加热此混合溶液直到其完全溶解;

均匀搅拌该混合溶液至甲苯中,并加入该二硫化碳至该搅拌溶液中;

再搅拌该混合溶液至石油乙醚中;以及

透过一玻璃漏斗过滤该混合溶液并以乙醚清洗该滤液。

12. 根据权利要求 9 所述的方法,其特征在于,该烷基胺掺杂物为一个或多个选自十六烷基胺、正癸基胺及三辛基胺所组成的群组。

13. 根据权利要求 12 所述的方法,其特征在于,对十六醇黄酸硫化锌纳米粒子而言,是使用十六烷基胺作为该烷基胺掺杂物;对十六醇黄酸硫化铅纳米粒子而言,是使用正癸基胺或三辛基胺作为该烷基胺掺杂物;以及对十六醇黄酸硫化铜纳米粒子而言,是使用十六烷基胺或三辛基胺作为该烷基胺掺杂物。

14. 一种使用纳米粒子标记来检测特定生物材料的诊断试剂套件,其特征在于,该诊断试剂套件包括:

一纳米粒子-生物材料复合物,其是包括一或多个纳米粒子,其是选自由锌、镉、铅、铜、镓、砷、铊、镍、锰及铋所组成的金属群组;一个或多个生物结合剂是透过结合安定剂与该纳米粒子结合,并特定与要检测生物材料结合;以及一结合安定剂在该纳米粒子和该生物结合剂之间形成键结;

一抽取溶液,自该纳米粒子-生物材料复合物中离析及抽取出该纳米粒子;

一收集电极,其是收集来自该抽取溶液的纳米粒子;以及

一电流峰值测量单元,是用以测量相对于在该收集电极所收集到的该等纳米粒子的电流峰值。

15. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,该纳米粒子是以金属硫化物形式存在。

16. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,该纳米粒子是由一个或多个选自一由锌、镉、铅及铜所组成的金属群组所制成。

17. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,该纳米粒子是由二个或多个纳米粒子互相连结所形成的纳米粒子复合物。

18. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,该生物材料是选择自具有核酸的群组,包含脱氧核糖核酸或核糖核酸、氨基酸、核酸-氨基酸复合物、脂肪、糖蛋白、信号物质,其包含 Ca^{2+} 、cAMP、cGMP、 IP_3 及 DAG,以及抗体。

19. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,该结合安定剂为二硫苏糖醇或二氢硫辛酸。

20. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,还包括一模拟-数字转换单元,用以将自该收集到纳米粒子所测量到的该电流峰值转换成数字信号。

21. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,还包括四个或多个纳米粒子-生物材料复合物,以同时检测四个或多个生物材料。

22. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,该抽取溶液是包含硝酸溶液。

23. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,若该纳米粒子具有一阳离子特性,则供应一负电压给该收集电极;以及若该纳米粒子具有一阴离子特性,则供应正电压给该收集电极。

24. 根据权利要求 14 所述的诊断试剂套件,其特征在于,该电流峰值测量单元是用来供应一特定电压给该收集电极收集到的纳米粒子,以便使该纳米粒子易于产生氧化/还原反应,并测量每一该纳米粒子的特有电流峰值,其是由该等纳米粒子的氧化/还原反应所

产生的。

25. 根据权利要求 24 所述的诊断试剂套件,其特征在於,供应一负电压或一正电压给该收集电极,以收集阳离子纳米粒子或阴离子纳米粒子,以及该电流峰值测量单元测量每一该纳米粒子的特征电流峰值,其是由收集到的每一个纳米粒子所产生的。

26. 根据权利要求 20 所述的诊断试剂套件,其特征在於,还包括一数字信号读取单元分析该数字信号,以推论出与该数字信号及 / 或检测到生物材料内容相对应的生物材料身分。

27. 根据权利要求 20 所述的诊断试剂套件,其特征在於,还包括一条形码转换单元,以将该数字信号转换为条形码。

28. 根据权利要求 20 所述的诊断试剂套件,其特征在於,包括一通讯单元,其是透过有线通讯或无线通讯来传输该数字信号至一远程诊断单元,并接收来自该远程诊断单元的数字信号的分析结果。

29. 一种使用纳米粒子标记的诊断方法,其特征在於,该方法包括下列步骤:

决定一个或多个生物材料结合材料,其是具有可与一个或多个要检测生物材料特定结合的能力;

选择一个或多个纳米粒子,其是选自由锌、镉、铅、铜、镓、砷、铊、镍、锰及铋所组成的金属群组,并将所选择的纳米粒子分别与该生物材料结合材料结合,以形成一个或多个纳米粒子-生物材料复合物;

混合该纳米粒子-生物材料复合物与一待诊断样本,以便诱导待检测的该生物材料以及该纳米粒子复合物之间的结合;

分离与该生物材料结合的该纳米粒子生物材料复合物;

从已分离的该纳米粒子-生物材料复合物中分离出纳米粒子,并收集分离出的该等纳米粒子;以及

测量收集到的该等相对应纳米粒子的特定电流峰值。

30. 根据权利要求 29 所述的诊断方法,其特征在於,该纳米粒子是以金属硫化物形式存在。

31. 根据权利要求 29 所述的诊断方法,其特征在於,该纳米粒子是由一个或多个选自一由锌、镉、铅及铜所组成的金属群组所制成。

32. 根据权利要求 29 所述的诊断方法,其特征在於,该纳米粒子是由二个或多个纳米粒子互相连结所形成的纳米粒子复合物。

33. 根据权利要求 29 所述的诊断方法,其特征在於,该生物材料是选择自具有核酸的群组,包含脱氧核糖核酸或核糖核酸、氨基酸、核酸-氨基酸复合物、脂肪、糖蛋白、信号物质,其包含 Ca^{2+} 、cAMP、cGMP、 IP_3 及 DAG,以及抗体所组成的群组。

34. 根据权利要求 29 所述的诊断方法,其特征在於,形成该纳米粒子-生物材料复合物的步骤包括下列步骤:

结合该纳米粒子的结合安定剂是可稳定该纳米粒子,该结合安定剂是包含一聚合物链,其一端具有一可与该纳米粒子结合的取代基,该聚合物链的相对另外一端是具有多个水溶性取代基;

活化该键结至该稳定纳米粒子的结合安定剂;以及

结合已活化的结合安定剂与该生物材料结合材料。

35. 根据权利要求 34 所述的诊断方法,其特征在於,该活化步骤包括容许羰基二咪唑与该纳米粒子结合安定剂复合物反应,以便活化该结合安定剂。

36. 根据权利要求 29 所述的诊断方法,其特征在於,若待检测的该生物材料为脱氧核糖核酸或核糖核酸,则该生物材料-结合材料为包含具有与其对应脱氧核糖核酸或核糖核酸结合能力的互补链的脱氧核糖核酸或核糖核酸。

37. 根据权利要求 29 所述的诊断方法,其特征在於,若待检测的该生物材料为抗原,则该生物材料-结合材料为特定可与抗原结合的抗体。

38. 根据权利要求 29 所述的诊断方法,其特征在於,还包括一将测量到的该电流峰值转换成数字信号的步骤。

39. 根据权利要求 38 所述的诊断方法,其特征在於,包括下列步骤:

透过有线或无线通讯来传输已转换的该数字信号至一远程诊断单元;以及

接收来自该远程诊断单元的数字信号的诊断结果。

40. 根据权利要求 14 至 28 任一项所述的诊断试剂套件,其特征在於,还包括一微量吸液管,该微量吸液管包含一装置用以吸取该生物材料样本。

41. 根据权利要求 40 所述的诊断试剂套件,其特征在於,该微量吸液管包括一单次使用性吸头,包含一网版印刷的单次使用性电极,以及一外部的恒电位器可连接至该单次使用性吸头至该电极。

42. 根据权利要求 40 所述的诊断试剂套件,其特征在於,该微量吸液管包括一微孔膜,以去除该生物样本的杂质。

43. 根据权利要求 40 所述的诊断试剂套件,其特征在於,还包括一磁体是包含在一架子式承载容器,以供插入一容纳试剂的容器。

44. 根据权利要求 40 所述的诊断试剂套件,其特征在於,该微量吸液管具有一移动式芯片包含在其中。

45. 根据权利要求 40 所述的诊断试剂套件,其特征在於,该微量吸液管中更包含一电化学测量模块或一光学测量模块。

46. 根据权利要求 14 至 28 任一项所述的诊断试剂套件,其特征在於,所述一电极是包含在一容器的塞子内,该容器是用以贮存该生物样本。

47. 一种单次使用性吸头,包含一电极,其特征在於,可连接至一恒电位器。

48. 根据权利要求 47 所述的单次使用性吸头,其特征在於,包括一微孔膜,以去除生物样本的杂质。

纳米粒子标记物、用该纳米粒子标记物的诊断及用该 纳米粒子标记物的诊断试剂套件与设备

技术领域

[0001] 本发明涉及一种纳米粒子标记物、使用此纳米粒子标记物的诊断方法与诊断试剂套件,以及使用此纳米粒子标记物的诊断装置;特别是关于一种利用纳米粒子标记物的氧化/还原能力的电化学诊断方法与诊断试剂套件,以及利用纳米粒子标记物的氧化/还原能力的诊断装置。

背景技术

[0002] 近年来,很多尝试使用蛋白质感测系统来诊断各种不同的疾病状况,为达到此目标,此蛋白质感测系统对使用者而言应具备方便操作,以及成本低廉和非常好的敏感性、选择性与可再现性。

[0003] 此蛋白质感测系统主要作为诊断系统使用,且其使用的标准样本包含免疫传感器(immune sensor),其是可感应抗原或抗体。

[0004] 此种诊断系统应作为一种确保可检测给予生物材料{蛋白质或脱氧核糖核酸(DNA)等}的方法,以用于诊断。如用来检测生物材料的现有方法,是使用有机染料的已知荧光标记法或是其它类似的方法。荧光标记根据不同种类而发出不同颜色,以提供装置检测目标生物材料。

[0005] 同时,当多种生物材料要被同时检测时,就必须使多个荧光标记发出不同的颜色。然而,当多种颜色如上所述同时发出时,会发生一现象,称之为“光漂白现象(photobleaching)”。此外,现有技术中的荧光标记具有一问题,亦即其具有较窄的光激发和发射带;再者,当他们结合生物材料时,可能会对生物材料的活性产生不利的影

[0006] 基于此理由,亟需一种标记方法,其可克服传统标记方法的问题,并确实具有更大的稳定性与实用性。同时,一种更稳定与精确的方法来检测多种生物材料是有必要的。

[0007] 同时,根据此需求,使用半导体量子点(以下简称为QD)纳米粒子的标记方法最近已被得知。现有技术的QD纳米粒子相较于荧光标记而言实际上较为稳定,但与要标记的生物材料的结合能力却较低,且无法克服其表面处理的限制。基于此理由,此现有技术的QD纳米粒子仅被使用作为标记来源光学分析(label source optical analysis)。

[0008] 因此,亟需要一种使用新颖纳米粒子的标记方法,其是可成功地与生物材料结合,且易于检测出该生物材料。

[0009] 近来,根据人类基因组计划研究以及医学目的的自我诊断(self-diagnosis)需求,生物分析系统(biological analysis systems)持续不断地发展,此乃因其具有一个最大的优势,即他们可以快速、便利且有成本效益的方式执行生物样本的分析。然而,目前的生物传感器以及生物芯片似乎是大有可为的,但就实际使用而言,现在却遭遇最终的一个限制,并且实验室用规格(laboratory-scale)生物感测系统仍然具有很多技术上的限制。且对于工业应用来说,稳定的分析系统仍然是不足够的。尤其是,含有基因组蛋白质感测系统(proteomic sensing systems)是有一个优势,其应用是可选择性地广展至不同细胞

类型的复杂功能以及各种不同疾病状况的诊断。然而,彻底了解一诊断系统是有必要的,可使现有实验室用规格蛋白质诊断更加实用,更为便利使用,且具有等同于这些大型规格研究系统的许多功能,并具有出色的敏感性、选择性和再现性(reproducibility)。

[0010] 免疫分析系统为提供使用者高精度的蛋白质分析方法,且对于早期诊断出人体疾病而言为最可靠的方法,在临床应用上,例如,肾脏疾病、糖尿病、心脏疾病和高血压。典型的代表为免疫分析传感器(immunoassaysensors),其是可执行一广泛、快速、便利与高效率的免疫检验,其不仅可早期诊断出病患疾病,更可筛选出各种不同的蛋白质复合物。另外,大部分的研究大多集中在具有多色荧光分析的多分析物免疫分析(multi-analyte immunoassays);然而,此种光学式免疫分析一般是利用有机染料的荧光标记,且因此而面临到很多的限制,即使他们具有如上所述的高光学敏感度。并且,荧光染料存在一个问题,他们会与生物分子表面产生反应,而导致危害到生物分子的生物机能。

[0011] 为了克服发生在光学分析系统上的这些问题,电化学感测技术不断发展及尝试,相较于光学分析技术而言,此种技术的优势在于利用更简单的程序、低成本需求以及更易于微型化。但是,此技术的发展已进行有数年了,在生物医学领域中商品化的系统引进仍然不是非常足够。

[0012] 再者,现在在医院及医疗相关代理机构中所使用,用以诊断血液葡萄糖及其并发症的系统是利用一种较复杂试剂治疗流程,且会浪费很多时间。此外,使用界面是局限在既复杂而又昂贵的设备以及专家,对于非内行的病患而言是很难进行早期诊断。

发明内容

[0013] 技术问题:

[0014] 因此,本发明为解决存在于现有技术中的上述问题,本发明的一目的是提供一种新颖的纳米粒子标记,其是具有与生物材料结合的杰出能力,并具有高纯净以及物理的稳定性。

[0015] 本发明的另一目的是提供一种包含有新颖纳米粒子标记的新颖的诊断试剂套件,其是具有与生物材料结合的杰出能力,并具有物理的和化学的稳定性。

[0016] 本发明的再一目的是提供一种使用一新颖纳米粒子标记诊断方法,其是具有与生物材料结合的杰出能力,并具有物理的和化学的稳定性。

[0017] 本发明的又一目的是提供一种诊断装置,其使重点照护检验(point-of-care test)可以使用一纳米粒子标记来直接执行。

[0018] 技术解决方式:

[0019] 为达到上面所述的各目的,根据本发明的一态样是提供一种纳米粒子生物材料复合物(nanoparticle-biomaterial complex),包括:一或多个纳米粒子,其是选自自由锌、镉、铅、铜、镓、砷、铈、镍、锰及铋所组成的金属群组;一特定生物材料;以及一结合一包含聚合物链的安定剂,其一端具有一可使安定剂连结至此纳米粒子电荷特性能力的取代基,以及相对另一端具有多个水溶性取代基,其中此结合安定剂透过一端的取代基与纳米粒子连结,透过多个水溶性取代基稳定此些纳米粒子,以及透过多水溶性取代基与此些生物材料形成键结。

[0020] 根据本发明的另一态样,其是提供一种制备纳米粒子的方法,此方法包括下列步

骤：容许十六烷醇、氢氧化钾及二硫化碳彼此互相反应，以制备一十六醇黄酸 (hexadecyl xanthate, 以下称为 HDX) 钾盐 (potassium salt)；容许获得的十六醇黄酸 (HDX) 钾盐与一个或多个纳米粒子反应，此纳米粒子是选自一由锌、镉、铅、铜、镓、砷、铊、镍、锰及铋所组成的金属群组，以制备出十六醇黄酸金属硫化物纳米粒子 (HDX metal sulfide nanoparticles)；以及容许此十六醇黄酸 (HDX) 金属硫化物纳米粒子与一特定烷基胺掺杂物 (alkylamine dopant) 反应，以制备金属硫化物纳米粒子。

[0021] 根据本发明的再一态样，其是提供一种诊断试剂套件，其包括一纳米粒子生物材料复合物、一抽取溶液、一收集电极以及一电流峰值测量单元。此纳米粒子生物材料复合物包括：一或多个纳米粒子，其是选自由锌、镉、铅、铜、镓、砷、铊、镍、锰及铋所组成的金属群组；一个或多个生物结合材料，其是透过结合安定剂 (binding-stabilizing agent) 与这些纳米粒子结合，特别是与要检测的生物材料结合；以及一结合安定剂在此些纳米粒子和生物材料结合材料之间形成键结。此抽取溶液是用以自这些纳米粒子生物材料复合物中离析及抽取纳米粒子。此收集电极是用以收集来自抽取溶液的纳米粒子。此电流峰值测量单元是用以测量在收集电极所收集到的这些纳米粒子的电流峰值。

[0022] 根据本发明的又一态样，其是提供一种诊断方法，包括下列步骤：决定一个或多个生物材料结合材料，其特别可与要检测的一个或多个生物材料结合；选择一个或多个纳米粒子，其是选自由锌、镉、铅、铜、镓、砷、铊、镍、锰及铋所组成的金属群组，并将所选择的纳米粒子分别与此生物材料结合材料结合，以形成一个或多个纳米粒子生物材料复合物；放置此纳米粒子生物材料复合物于一要检测的样本中，并混合此纳米粒子生物材料复合物与样本，以便诱导待检测的生物材料以及纳米粒子复合物之间的结合；离析特别与此生物材料结合的纳米粒子生物材料复合物；分离并收集来自此已离析的纳米粒子生物材料复合物的纳米粒子；以及测量收集到的这些纳米粒子相对应的特定电流峰值。

[0023] 根据本发明的又再一态样，其是提供：一滴液管式 (dripette-type) 诊断装置 400，其是连接至一架子式承载容器 (rack-type docking container) 500，其包含一外部恒电位器 (potentiostat)；一微量吸液管式 (micropipette-type) 诊断装置，其包括一单次使用性吸头 300 及一本体 200；以及一塞子式 (stopper-type) 诊断装置，其是透过一塞子 110 连接至一恒电位器，并包含有一三极管电极和一连接件 40。

[0024] 以下，本发明将配合图式详细说明各实施例的技术内容，使熟悉此技术的人士可易于了解，但，必须了解的是，本发明在此所举的各种形式的实施例仅是用来举例说明而已，并非用来限定本发明实施的范围。

[0025] 本发明提供一种新颖的纳米粒子标记，其是可用作为生物材料的信号标记。

[0026] 在此所使用的，名称“生物材料 (biomaterials)”，是指以存在于生物有机体的材料，当其以一特定标记被检测时，可以用来作为生物应用。特别的是，此生物材料包含核酸，例如脱氧核糖核酸 (DNA) 或核糖核酸 (RNA)，氨基酸、核酸-氨基酸复合物或抗体。

[0027] 在本发明的实施例中，生物材料的样本包含肾脏与心脏相关疾病早期临床标记、人体血清蛋白 (human serum albumin, HAS)、人体 β_2 -小配子 (human β_2 -microglobulin, MG)、人体肌红蛋白 (human myoglobin, Mb)、C 反应性蛋白 (C-reactive protein, CRP) 以及其它类似的。

[0028] 根据本发明的检测纳米粒子的方法的实施例，上面所述的生物材料的浓度可以被

精确的测量出来。同时,当使用根据本发明实施例的检测纳米粒子的方法时,本发明检测方法的使用者可以根据生物材料所测量到的浓度是否超过一特定浓度,以警告一检测对象关于特定疾病的感染,或是可以使用此所测量到的浓度作为一特定疾病的诊断根据。特别是应该可以了解,一特定生物材料与一特定疾病是相互联系的,例如,可以使用本发明的纳米粒子作为标记来检测糖尿病或高血压,且此检测发展可以用来作为有关特定疾病的诊断根据。

[0029] 在本发明的实施例中,使用纳米粒子作为纳米粒子标记为一种具有杰出的分辨率(resolution)和信号选择性的金属形式纳米粒子,而在本发明的实施例中使用的纳米粒子并非特别限定在仅具有杰出的分辨率和信号选择性的金属。在本发明的实施例中所使用的名称“分辨率(resolution)”,是指由相关金属产生的信号的峰值宽度较窄,使得它从其它信号的峰值可分辨出来而没有重迭;以及名称“信号选择性(signal selectivity)”表示由该相关金属产生的信号峰值大小是可轻易从其它金属所产生的信号峰值分辨出来,换句话说,分辨率的增加导致信号选择性的增加。

[0030] 根据本发明的实施例,此金属纳米粒子为金属硫化物(metal sulfide,以下称为“MS”),其是根据如下面所述的一种纳米晶体合成方法(nanocrystal synthesis method)获得,当一金属溶解在此金属硫化物、锌(Zn)、镉(Cd)、铅(Pb)、铜(Cu)、镓(Ga)、砷(As)、铊(Tl)、镍(Ni)、锰(Mn)或铋(Bi),是可作为本发明的较佳实施例。尤其是使用锌(Zn)、镉(Cd)、铅(Pb)或铜(Cu)为较佳,此乃因其可以产生具有更杰出分辨率的选择性信号。

[0031] 根据本发明实施例,此种金属纳米粒子的尺寸是相当于大部分生物材料的尺寸范围,因此该金属纳米粒子可轻易地与生物材料形成一“纳米粒子生物材料复合物(nanoparticle-biomaterial complex)”。

[0032] 根据本发明实施例的纳米粒子标记,其是可与一生物材料稳定形成共价键,如同生物材料一样,是使用一特定抗体来检测一起因蛋白(causative protein)以指示人体疾病的征状(symptom)。然后,此相关的纳米粒子是使用金属纳米粒子标记的电化学特征来检测。

[0033] 因此,根据本发明实施例,当使用纳米粒子标记时,此相关纳米粒子标记的接收信号可以透过一电化学检验来分析,以感测键结至纳米粒子的特定抗体的存在,因而通过此检测此起因蛋白。根据此分析的结果,可以感测到此起因蛋白,再根据此感测结果,可以诊断出一特定疾病的征状。

[0034] 另一方面,本发明是提供:一滴液管式(dropette-type)诊断系统400,其是连接至一架子式承载容器(rack-type docking container)500,其包含一外部恒电位器(potentiostat);一微量吸液管式(micropipette-type)诊断系统,其包括一单次使用性吸头300及一本体;以及一塞子式(stopper-type)诊断系统,其是透过一塞子110连接至一恒电位器(potentiostat),并包含有一三极管电极以及一连接件40。首先,此滴液管式(dropette-type)诊断系统400包含一吸取装置(suction device)10,用以抽取一生物样本;一样本入口(sample inlet)20;一连接件40连接至一架子式承载容器500,其包含一外部恒电位器;以及三极管电极(triode electrode)30。此单次使用性滴液管(disposable dropette)400可包括一微孔膜(microporous membrane)15,以去除生物样本

中的杂质。再者,此微量吸液管式诊断系统包括一单次使用性吸头 (disposable tip) 300, 其具有一样本入口 20, 以及一三极管电极 30 ; 并有一含恒电位器的本体 200, 其是包含一吸液管模块 (pipette module) 11, 此吸液管模块 (pipette module) 11 可包含如弹簧和齿轮等各种部件 ; 一连接件 40 连接至单次使用性吸头 300 ; 一移动式电路 90 以及一显示模块 100。此单次使用性吸头 300 可以包含一微孔膜以去除生物样本中的杂质。并且, 就塞子式诊断系统而言, 三极管电极 30 是插入至一容器的塞子 110 中, 且突出至容器中, 使得此电极可以接触到生物样本部分。透过三极管电极测量到的信号是透过连接件 40 传送至外部的恒电位器。有利的功效 :

[0035] 使用本发明的纳米粒子标记来检测与诊断生物材料的诊断试剂套件可以分析每一金属纳米粒子的特征电流峰值, 因此可利用简便、定量的及精确的方式来测量此要检测的生物材料。因此, 使用本发明纳米粒子的诊断试剂套件可以快速且简便的方式显示出检测与诊断的结果。

[0036] 另外, 使用本发明的纳米粒子标记来检测与诊断生物材料的诊断试剂套件是具有很低的检测限制, 使得它甚至在一病患样本 (尿、血液或体液) 的极微数量中所包含的一生物材料 (抗原或脱氧核糖核酸), 也可以精确的测量出来, 因此, 此诊断试剂套件是可以加以微型化的。

[0037] 因此, 根据本发明实施例, 使用此纳米粒子作为标记的诊断试剂套件是可以快速且简便的方式利用电化学方式诊断人体疾病 (糖尿病、肾脏疾病、心脏病等)。

[0038] 以微量吸液管形式存在的本发明诊断装置, 此为信息技术集中整合及微型化的测量装置, 其是具有包含在容器塞子的电极。此诊断装置可以从非常少量的病患样本如包含尿、血液以及体液中, 非常精确且简便地诊断一相关生物材料, 且可轻易地执行重点照护检验 (point-of-care testing), 以便帮助病患它们可以自己处理各种不同的慢性疾病。

附图说明

[0039] 图 1(a) 是显示根据本发明的一实施例, 使用纳米粒子标记来检测脱氧核糖核酸 (DNA) 的方法的概念示意图 ;

[0040] 图 1(b) 是显示根据本发明的一实施例, 使用纳米粒子标记来检测抗原的方法的概念示意图 ;

[0041] 图 2 是显示根据本发明的一实施例, 制备纳米粒子的方法的概念示意图 ;

[0042] 图 3(a) 是显示根据本发明的一实施例, 制备纳米粒子-抗体复合物的方法的概念示意图 ;

[0043] 图 3(b) 是显示根据本发明的一实施例, 制备纳米粒子-脱氧核糖核酸复合物的方法的概念示意图 ;

[0044] 图 4(a) 是显示根据本发明的一实施例, 由溶解在硝酸中的 ZnS-anti- β_2 -MG、CdS-anti-Mb、PbS-anti-HSA 以及 CuS-anti-CRP 所获得的条形码的坐标图, 并将结果的电流峰值及相对应的电流峰值信号转换为数字信号 ;

[0045] 图 4(b) 是显示一实例的电流峰值信号的坐标图, 其中此实例要检测的样本中无抗原供检测 ;

[0046] 图 4(c) 至图 4(f) 是显示转换电流信号及对应峰值信号为数字信号所获得的各条

形码的坐标图,其中在此些实例中每一要检测的样本是存在一个抗原目标;

[0047] 图 4(g) 是显示在一实例中转换电流峰值信号及对应电流峰值信号所获得的条形码的坐标图,其中在此实例中要检测的样本是存在四种抗原目标;

[0048] 图 5 是显示根据本发明的一实施例,使用纳米粒子标记的诊断方法的流程图;

[0049] 图 6 是显示本发明的一种,其中:图 6(a) 单次使用性滴液管式诊断装置以及图 6(b) 含有单次使用性吸头的微量吸液管式诊断装置的结构示意图;

[0050] 图 7 是显示单次使用性滴液管的基本架构模型示意图;

[0051] 图 8 是显示一承载式 (docking-type) 诊断装置中的电子分析装置 (electrical analytical device) 结构示意图,其是连接一吸液管吸头及一试剂容器;其中:图 8(a) 显示连接至一单次使用性吸液管的架子式承载容器的透视图;以及图 8(b) 显示在图 8(a) 中的容器的剖视图;

[0052] 图 9 是显示使用本发明的诊断装置进行免疫分析一病患的尿液样本(尿蛋白)的免疫分析步骤;

[0053] 图 10 是显示最简单的自我生物分析系统的结构示意图,其是包含一单次使用性容器及一具有电极依附在其中的塞子;

[0054] 图 11 是显示负电极免疫剥离电流信号 (immuno-stripping current signals) 作为三种抗原物质浓度增加的函数坐标图,其是使用本发明的吸液管式传感器所同时分析的;

[0055] 图 12 是显示应用本发明的诊断装置所获得的各种生物传感器模型的结构示意图。

具体实施方式

[0056] 以下,是一种根据本发明的一具体实施例,其是使用纳米粒子标记物来检测特定生物材料的方法,其详细描述将参照图 1(a) 与图 1(b) 所示。

[0057] 图 1(a) 是显示根据本发明具体实施例,使用纳米粒子标记来检测脱氧核糖核酸 (DNA) 的方法的流程图。图 1(a) 是说明一种使用纳米晶体标记物来执行检测的方法,在此实施例中要检测的材料为四种脱氧核糖核酸 (DNA) 片段。

[0058] 首先,获得可供分别检测与四种 DNA 片段互为互补的四种 DNA 片段 (T1、T2、T3 及 T4),本发明的金属硫化物 (MS) 纳米粒子结合于每一个获得的 DNA 片段。在此硫化锌 (ZnS)、硫化镉 (CdS)、硫化铅 (PbS) 和硫化铜 (CuS) 纳米粒子分别结合于与 DNA 片段 (T1) 互补的 DNA 片段、与 DNA 片段 (T2) 互补的 DNA 片段、与 DNA 片段 (T3) 互补的 DNA 片段,以及与 DNA 片段 (T4) 互补的 DNA 片段。

[0059] 然后,将标记有本发明的纳米粒子的制备 DNA 片段,加入至包含有四种要检测的 DNA 片段 (T1、T2、T3、T4) 的样本中,并经 DNA 杂交反应 (hybridization) (S100)。

[0060] 在此时,在移除未经杂交反应的 DNA 片段之后,将已杂交反应的 DNA 片段溶解于硝酸溶液中;然后,将一电极置入此硝酸溶液中,导入一特定的负电压于此电极,如此可以收集带有阳离子的本发明的纳米粒子。如果利用是带有阴离子的纳米粒子作为本发明的纳米粒子,则须使用正电压来收集纳米粒子。

[0061] 如上所述在电极所收集到的纳米粒子是经伏特剥离 (voltammetric stripping), 以作为一种纳米粒子检测方法, 如此可测量与每一纳米粒子相对应的电流峰值 (S200)。

[0062] 接下来, 将测量到与每一纳米粒子相对应的电流峰值作为样本, 并将其转换成数字信号之后再输出 (S300)。

[0063] 图 1(a) 是显示使用条形码方式来作为数字信号的结果, 通过由分析此些数字信号, 可将相关数字信号相对应的纳米晶体鉴别出来, 一脱氧核糖核酸片段含有已鉴别的纳米晶体结合于其上, 以及与已鉴别片段可互补性结合的另一脱氧核糖核酸片段就可以相继被鉴别出来。因此, 透过此数字信号的分析, 显然一个要检测的脱氧核糖核酸片段是存在于一要检测的样本中, 通过由相对应的数字信号指示出其份量。

[0064] 如图 1(b) 是显示根据本发明的一具体实施例, 使用纳米粒子标记来检测抗原的方法。

[0065] 首先, 本发明的金属硫化物 (MS) 纳米粒子是结合于四种抗体 (Ab1、Ab2、Ab3、Ab4) 上, 其是分别与特定的四种待检测的抗原 (Ag1、Ag2、Ag3、Ag4) 结合。在此, 硫化锌 (ZnS)、硫化镉 (CdS)、硫化铅 (PbS) 和硫化铜 (CuS) 纳米粒子分别各自结合于抗体 (Ab1)、抗体 (Ab2)、抗体 (Ab3) 和抗体 (Ab4) 上。

[0066] 然后, 将这种已标记有本发明的纳米粒子的已制备的抗体加入于含有待检测抗原的样本中, 并予以三明治式的免疫反应 (S400)。

[0067] 在此同时, 在移除标记有本发明纳米粒子而没有特定结合于抗原的抗体之后, 将已键结的抗原抗体复合物溶解于一硝酸溶液中。然后, 将一电极置入此硝酸溶液中, 此电极导入一特定负电压于此抗体抗原复合物中, 如此可以收集带有阳离子的本发明的纳米粒子。所收集到的纳米粒子是应用特定的剥离电压来测量每一纳米粒子独特的信号峰值 (S500)。

[0068] 然后, 将以相对应于每一纳米粒子所测量到的电流峰值作为样本, 再将其转换成数字信号后将其输出 (S600)。通过由分析此数字信号, 相对应于此相关数字信号的纳米晶体可被鉴别出来, 且一个具有已鉴别纳米晶体结合于其上的抗体, 以及一个与已鉴别的抗体可互补键结的抗原, 皆被相继的鉴别出来。因此, 透过此数字信号的分析, 可见待检测的抗原是存在于待检测的样本中, 通过由相对应的数字信号指示出其份量。

[0069] 以下根据本发明一实施例制备纳米粒子的一种方法的详细描述将参照图 2 所示。此种根据本发明实施例的纳米粒子是具有高度的水溶解性及物理、化学稳定性, 并对于生物材料显示高度的生物兼容性。

[0070] 根据本发明一实施例的制备纳米粒子的方法, 包含一个制备含有金属的十六醇黄酸 (hexadecyl xanthate, 以下称为 HDX) 钾盐 (potassium salt) 的步骤 (S700); 一个合成金属硫化物纳米粒子的步骤 (S800); 以及一个稳定并包覆纳米粒子表面结构的步骤 (S900)。

[0071] 图 2 是显示根据本发明的一实施例, 制备纳米粒子的方法的概念示意图。

[0072] 首先, 制备 HDX 钾盐的步骤 (S700) 将会详细叙述, 在此一具体实施例中, HDX 主要是用以稳定地包覆金属纳米粒子, 以产生金属硫化物。如图 2 所示, 使用锌、镉、铅和铜作为是纳米粒子的金属。

[0073] 将 9.69 克 (0.04 摩尔) 的十六醇 (hexadecanol) 与 2.24 克 (0.04 摩尔) 的氢氧

化钾 (KOH) 混合并加热至温度摄氏 150 度,直到混合溶液完全溶解为止。然后,在摄氏 100 度下将混合溶液均匀地拌入 25 毫升的甲苯中。然后,于室温下加入 4.41 克很少量的二硫化物,因此产生黄色溶液。在此之后,极力搅拌此黄色溶液持续 1 小时,然后再拌入 100 毫升石油醚 (petroleum ether) 持续搅拌 2 小时。然后,将此溶液透过玻璃漏斗过滤并以乙醚清洗,再重复此过滤和清洗步骤数次,于是可获得 HDX 钾盐为最终产物。具体而言,将此 HDX 钾盐在真空烤箱完全烘干,并使用 20 毫升的冷蒸馏水清洗,透过玻璃漏斗过滤,干燥,以乙醚清洗,再以甲醇洗涤 3 次,然后再干燥,于是可以获得 HDX 钾盐为最终产物。

[0074] 在此具体实施例, HDX 钾盐 ($C_{16}CH_2CH_2OCS_2^-$), 拥有一致性的粒子大小与高溶解性与纯度,可以透过上面所描述的过滤及清洗制程的多重步骤来获得。

[0075] 然后,将详细说明合成金属硫化物纳米粒子的步骤 (S800), 以及稳定纳米粒子表面结构的步骤 (S900)。

[0076] 由上述所获得的 HDX 钾盐 ($C_{16}CH_2CH_2OCS_2^-$) 是在低温状态下分解的。然后,将 3.56 克的 HDX 钾盐溶解在 5 毫升的甲醇中,使其与相等摩尔数量的氯化镉 ($CdCl_2$)、氯化铅 ($PbCl_2$)、氯化锌 ($ZnCl_2$) 和氯化铜 ($CuCl_2$) 分别反应 2 分钟。完成此一反应后,每一混合溶液使用离心机分离并去除上层杂质,留下金属 HDX 硫化物纳米粒子 (S800)。所获得的金属 HDX 再以甲醇洗涤,并在真空烤箱中完全烘干。

[0077] 然后,将所获得的金属 HDX 与一烷基胺掺杂物混合,此烷基胺掺杂物是被认为拥有提供强大电子施体 (donor) 能力和稳定金属 HDX 单层的能力。虽然烷基胺掺杂物被应用于本发明的具体实施例中并没有特别的限制,只要是具有强大电子的施体能力和稳定金属 HDX 即可,但最好是使用十六烷胺 (hexadecylamine, 以下简称为 HDA)、癸胺 (decylamine, 以下简称为 DA) 和 / 或三辛胺 (trioctylamine, 以下简称为 TOA)。具体而言,于本实施例中, HDA 是用于 Zn-HDX 和 Cd-HDX, TOA 和 DA 是应用于 Pb-HDX, TOA 和 HDA 是应用于 Cu-HDX。

[0078] 在烷基胺掺杂物与金属 HDX 混合之前,须先把烷基胺掺杂物加热升温至摄氏 120 度,再冷却降温至摄氏 50 度。然后,加入 0.05 克的金属 -HDX 粉末并同时均匀的搅拌。然后,搅拌此混合溶液 30 分钟并同时加热至摄氏 100 度,搅拌混合溶液经缓慢加热至摄氏 120 度之后,然后持续反应达到 1.5 小时。待现有的混合反应经加热至摄氏 140 度达 2 分钟完成最后的反应之后,缓慢的将温度降低至摄氏 70 度。

[0079] 最终结果的金属晶体粒子分别是白色的硫化锌纳米晶体粒子,黄色的硫化镉纳米晶体粒子,黑色的硫化铅纳米晶体粒子以及蓝绿色的硫化铜纳米晶体粒子。这些纳米晶体粒子可以甲醇凝聚,以致可以沉淀于测试试管底部而轻易抽取。然后,纳米粒子将经过数次的离心与沉淀分离步骤后,并于室温下干燥,制造出最终的纳米晶体粒子的纯粉末。

[0080] 图 3 为详细描述一种通过由获得的作为标记的纳米粒子来结合在一已知的生物材料上,用以制造纳米粒子生物材料复合物的方法。在此具体实施例中,抗 -Mb, 抗 -HSA, 抗 - β_2 -MG, 和抗 -CRP 等的抗体被应用作为生物材料。

[0081] 图 3 是显示根据本发明一实施例,制备纳米粒子 - 生物材料复合物的方法的概念图。

[0082] 图 3(a) 是显示根据本发明的一实施例,制备纳米粒子 - 抗体复合物的方法的概念图。图 3(b) 是显示根据本发明的一实施例,制备纳米粒子 - 脱氧核糖核酸复合物的方法的概念图。

[0083] 此制备纳米粒子-生物材料复合物的方法,包括提供上述获得的金属纳米粒子(MS),与安定剂反应后以便保持稳定,再使用活化剂活化纳米粒子后,然后使其与生物材料反应,因此产生纳米粒子-生物材料复合物。

[0084] 使用于本发明实施例的安定剂,是作为对纳米粒子起物理性与化学性的安定作用,并增加纳米粒子的溶解性,使得纳米粒子对生物材料的生物兼容性增加,因此提供纳米粒子-生物材料复合物的稳定性。特别是,安定剂的组成结构包含一聚合物物质,其一端具有一个可与纳米粒子键结的化学基,相对另一端则拥有多重水解基。此安定剂是通过由具有化学基的一端包围纳米粒子与纳米粒子键结,通过由另一端多重水解基来保护自水解媒介质中的纳米粒子,因此据此确保这些纳米粒子的安定性。同样地,在另一端透过一部分的多重水解基与生物材料键结形成共价键,因此促使纳米粒子与生物材料之间的键结。

[0085] 在本发明具体实施例中,二硫苏糖醇(dithiolthreitol,以下简称为 DTT)和二氢硫辛酸(dihydrolipoic acid,以下简称为 DHLA)是作为安定剂的较佳实施例。这种 DTT 或 DHLA 对于纳米粒子具有高度的安定性,因为其表面的化学特性以及水溶液中的高溶解性。特别是,DTT 通过由在分子结构上的硫醇基(-SH)以纳米尺寸标准,强力并均匀地包围在此纳米粒子表面,所以可以保持纳米粒子的安定结构,同时产生一氢氧基于纳米粒子表面,结果使得纳米粒子水溶解性增加。在此,结合安定剂是透过使用硫醇基(-SH)的负电荷特性均匀地包围纳米粒子来键结至具有正电荷特性的纳米粒子。因此,作为结合安定剂,较佳的是使用一种含有负电荷特性的多重取代基的物质在一端来均匀地包围纳米粒子,以稳定纳米粒子,且多重水溶解取代基则在相对另一端,以增加纳米粒子的水溶解性。在本发明具体实施例中,硫醇基(-SH)是作为拥有负电荷特性取代基的例子,但相信也可以使用其它具有负电荷特性的取代基,其中一特别范例,氢氧基(-OH)也可以使用。因为这具体实施例使用具有正电荷特性的纳米粒子,所以最好使用的安定剂是具有负电荷特性;但当使用具有负电荷特性的纳米粒子时,则最好是使用具有正电荷特性的取代基的安定剂为较佳者。

[0086] 在本发明具体实施例中使用的活化剂,用以诱导安定剂的活化,所以安定剂可与生物材料的氨基形成一氨基钾酸酯的键结。在本发明具体实施例中,所使用 1,1-羰基二咪唑(1,1-carbonyl diimidazole,以下简称为 CDI)作为活化剂为较佳者。

[0087] 图 3(a)为详细描述一种制备纳米粒子-抗体复合物的方法。如图 3(a)所示,纳米粒子与 DTT 混合搅拌 12 小时后以产生氢氧根(S1000),然后使用 CDI 活化(S1100)。此活化的金属纳米粒子(CdS、PbS、ZnS 和 CuS)与各 100 μ l 的抗-Mb、抗-HSA、抗- β_2 -MG、以及抗-CRP(240M 于 20mM 的磷酸盐缓冲液(PBS),pH 值为 7.4)于室温下搅拌 24 小时来反应(S1200)。在完成反应后,使用二氧六环(dioxane)将未反应的抗体去除,最终结果物质将存放于 0.1M 磷酸盐缓冲液中(pH 值为 7.4,0.05% Tween 20)。

[0088] 图 3(a)中,MS QD-Ab 于概念上显示金属硫化物量子点纳米粒子可以透过 DTT 与抗体产生键结。

[0089] 图 3(b)为详细描述一种制备纳米粒子-脱氧核糖核酸(DNA)复合物的方法。如图 3(b)所示,纳米粒子与 DTT 混合搅拌 12 小时后产生氢氧根(hydroxylated)(S1300),然后使用 CDI 活化(S1400)。此活化的金属纳米粒子(CdS、PbS、ZnS 和 CuS)是分别与 100 μ l 的四种氨基 DNA 于室温下搅拌 24 小时来反应(S1500)。在完成反应后,将未反应的 DNA 片段移除,最终结果得到纳米粒子-DNA 复合物。

[0090] 在图 3(b) 中, MS QD-DNA 于概念上显示金属硫化物量子点纳米粒子可以透过 DTT 与 DNA 产生键结。

[0091] 请参照图 3(a) 与图 3(b), 有关于本发明具体实施例中的纳米粒子透过 DTT 被 CDI 活化后可以稳定的与生物材料键结, 例如抗体或脱氧核糖核酸。

[0092] 以下, 根据本发明的一实施例, 底下将详细叙述一种可检测与生物材料结合的纳米粒子标记物的检测方法。

[0093] 本具体实施例是使用电化学检验来作为检测纳米粒子标记物的方法。使用于本发明中的电化学检验是在水溶液中进行以测量电位、电流、电导率、阻抗、电容、电阻或类似信号, 且其对于一个小型的数组来说是非常实用, 因为其可以实现微型化和快速的信号处理过程。

[0094] 在本发明的具体实施例中, 于此些电化学检验中是使用方波阳极剥离电压。

[0095] 在本发明具体实施例中使用的剥离电压大致包括两步骤。首先, 通过由将已标记有纳米粒子标记物的生物材料置放于一供应的水溶液中, 将一电极置放入其中, 透过电极提供一特定电压纳米粒子; 根据所提供的电压, 纳米金属粒子会向其相关的电极方向移动, 因此可于其相关电极上收集到纳米金属粒子。然后, 提供一特定电压给聚集在相关电极上的纳米粒子金属, 因此一特定电流会流经此纳米粒子金属。在此, 每一种纳米粒子金属都会通过由氧化及还原反应产生一特定的电子电流峰值, 此特定的电子电流峰值是因每一纳米粒子金属的种类而定, 并可测量出此特定的电流峰值, 以决定纳米粒子标记物的存在和其浓度。

[0096] 根据本发明具体实施例, 使用剥离电压检测纳米粒子标记物的方法是提供皮摩尔 (picomolar) 等级的检测限制。根据本发明的具体实施例, 此检测限制是透过使用高纯度的纳米粒子来达成的。此外, 根据本发明实施例, 通过由催化作用来控制纳米晶体的尺寸, 是可显著的增加传感器信号的敏感度。

[0097] 根据本发明的具体实施例, 当多个生物材料须同时使用纳米粒子进行检测时, 每一种不同的金属纳米粒子将分别被应用于各个不同的生物材料上。在此一实例中, 每一个纳米粒子根据金属种类而分别显示其特定的电流峰值, 因此使多个生物材料可同时被检测出来。

[0098] 在本发明实施例中, 使用方波阳极剥离电压来进行电化学检验, 其是使用 Autolab 12 生化分析仪 (荷兰的 Eco Chemie 公司所生产) 以 GPES 软件来执行。为此分析, 在一个 1.5-ml 的玻璃单元内, 使用一个尺寸为 2×4 厘米 (mm) 的网版印刷碳工作电极 (Acheson-ink 公司所生产)、一个银 / 氯化银参考电极 (美国 Astin TX 的 CH Instruments 公司所生产) 以及一个白金辅助电极 (美国 Astin TX 的 CH Instruments 公司所生产)。尤其是使用一涂布汞 (II) 离子或铋离子的电极作为此网版印刷碳工作电极。所有的离心过程是透过 Micromax 离心机 (美国 MA 的 Thermo IEC 公司所生产) 来完成的。

[0099] 在本发明的具体实施例中, 使用方波阳极剥离电压将被详细描述如后。

[0100] 首先, 将已标记有纳米粒子标记物的生物材料溶解在含水硝酸溶液中, 然后将电极置入此硝酸溶液中。

[0101] 然后, 在电极施加 0.6 伏特的电压预处理此生物材料 1 分钟, 而在电极施加 -1.4 伏特的负电位 2 分钟, 使得金属纳米粒子朝向电极聚集。在此, 使用 1 毫升 0.1 摩尔浓度

的醋酸盐缓冲液 (pH4.5)。静置 5 秒后,使用剥离电压来测量电流峰值,其是源自于每一个金属纳米粒子且为每一个金属纳米粒子所特有的。特别是,此剥离电压的应用是在电位范围 1.2 伏特到 0.12 伏特之间,且用一步阶电位为 50 毫伏特的情况下执行,其强度等级为 20 毫伏特以及频率为 25 赫兹 (Hz)。所获得曲线的基线修正是使用 6PES 软件中的“移动平均 (moving average)”模式所完成。所有的最终结果皆透过软件本身中的“背景抽取 (background subtraction)”功能选项来储存。

[0102] 图 4(a) 到图 4(g) 是显示根据本发明的实施例,使用一电化学检验来检测四种抗体的程序。

[0103] 图 4(a) 是显示根据本发明的具体实施例,由溶解在硝酸中 ZnS-anti- β_2 -MG、CdS-anti-Mb、PbS-anti-HSA 以及 CuS-anti-CRP 所获得的电流峰值,而此图 4(a) 中的电流峰值是作为分析由电化学检验所获得的电流峰值的参考。

[0104] 图 4(b) 是显示通过由转换电流峰值信号及对应的电流峰值信号转为数字信号所获得的条形码,在此情况下,要检测的样本中是无抗原的。

[0105] 图 4(c) 至图 4(f) 是显示通过由转换电流峰值信号及相关峰值信号为数字信号所获得的条形码,在此情况下,每一要检测的样本中具有一个抗原目标。

[0106] 图 4(g) 是显示通过由转换电流峰值信号及对应电流峰值信号为数字信号所获得的条形码,在此情况下,要检测的样本中具有四种抗原目标。

[0107] 图 4(c) 至图 4(g) 中所示的条形码和其底部的数字是显示抗原目标的浓度。

[0108] 请参考如图 4(a) 中所示,以标记有纳米粒子 (CdS、PbS、ZnS 和 CuS) 的抗体是分别地具有可以用来区别与其它不同电流峰值显著不同的电流峰值,且即使在抗体和抗原 (Ag1、Ag2、Ag3 和 Ag4) 各别键结反应后,其电流峰值亦无法改变。因此,就从这些获得的电流峰值中,是可以检测到在要检测的样本中所包含每一抗原的数量。在此,由每一金属离子键结至其相对应的抗体产生的电流峰值是显示在电压分别为,锌-抗原 (Ag1) (ZnS-anti- β_2 -MG) 的 -1.12 伏特、镉-抗原 (Ag2) (CdS-anti-Mb) 的 -0.68 伏特、铅-抗原 (Ag3) (PbS-anti-HSA) 的 -0.53 伏特、和铜-抗原 (Ag4) (CuS-anti-CRP) 的 -0.13 伏特。

[0109] 如上面所述,使用在本发明的实施例中的阳极剥离电压中,产生电流峰值信号的金属纳米粒子的电位是可以轻易的选择性分析出来。在本发明的具体实施例中,金属具有的显著的电流峰值,其不会互相涵盖阳极电压范围,并被选择作为纳米粒子的过渡金属。使用阳极剥离电压时,使用阴极电位的金属为较佳。然而,在此实例中使用阴极剥离电压,则最好是选择阳极电位的金属。

[0110] 在此实例中,使用纳米粒子来为每个使用上述两者阳极及阴极的电极以产生特征电流峰值,是有大量的金属可以用来作为纳米粒子。因而,是可同时检测大量的生物材料。

[0111] 在一模拟-数字转换单元中根据所提供的数字转换方法,所获得的电流峰值是可以数字化的。特别是,将所获得的模拟形式电流信号进行取样并输出作为相对应的数字信号。数字转换方法包含一个通过由取代信号数值的数字化步骤,以及一个正规化步骤 (normalization step)。此数字化是通过由统计学上的最佳阈值 (optimal threshold) 及分段线性插值 (piecewise linear interpolation) 所完成者。

[0112] 产生的电流峰值信号是根据其强度和倾向来转换成数字信号,并可透过有线或无线通讯装置将信号传送到远程,或是可储存为数字图像。此数字图像的特定例子可包括条

形码。

[0113] 图 4(b) 到图 4(g) 是显示将电流峰值信号转换为条形码；图 4(b) 是显示当电流峰值没有检测到时所获得的条形码；以及图 4(c) 到图 4(f) 是分别显示当纳米粒子-抗体复合物 ZnS-Ag₁、CdS-Ag₂、PbS-Ag₃ 以及 CuS-Ag₄ 被检测的各个例子，被检测复合物所测量到的电流峰值信号被转换成条形码。图 4(g) 是显示当四种纳米粒子-抗体复合物 ZnS-Ag₁、CdS-Ag₂、PbS-Ag₃ 和 CuS-Ag₄ 被同时检测的例子，被检测复合物所测量到的电流峰值信号被转换成条形码。显示在图 4(b) 到图 4(g) 中条形码下的数字是分别对应于锌、镉、铅和铜的个别的特征电流峰值，其强度是对应于所测量到的电流峰值强度。因此，通过由图 4(b) 到图 4(g) 所示的条形码，对应纳米粒子的存在与内容可以被判定，且与对应纳米粒子形成复合物的抗体的存在与内容亦可通过此被判定。

[0114] 此经数字化的信号可以通过由所提供的数字读取装置和条形码读取装置而被读取，且其可被储存于所供应的储存媒介中。尤其是，当在医院使用本发明的诊断试剂套件时，每一个病患的诊断结果可以被数字化并储存于医院中一病患样本数据库中。

[0115] 再者，对于生物材料（蛋白质、脱氧核糖核酸、核糖核酸和细胞）的每一个标记物个体的条形码的频带宽度，是可利用码分多址（以下称为“CDMA”）或普遍存在的技术与无线医疗诊断通讯装置整合，都是现今重要的无线 IT 技术。

[0116] 如上所述，根据本发明的电化学检验是显示稳定的结果，电化学检验的稳定性是透过 5 次重复性的试验所评估而得，可以参考如下表一所示，此电化学检验是显示非常高的再现性在同一样本包含四种浓度为 100ng/ml 的不同抗体（level 4）。

[0117] 【表一】

[0118]

抗原	电流峰值电压	检测限制 (ng/ml)	R. S. D (%)
β_2 -MG (Ag ₁)	-1.11	10.6	9.3
Mb (Ag ₂)	-0.67	9.5	7.1
HSA (Ag ₃)	-0.45	9.8	11.2
CRP (Ag ₄)	-0.08	12.1	10.3

[0119] 如同在表一所示，抗原 (Ag₁、Ag₂、Ag₃ 和 Ag₄) 分别键结到锌纳米粒子、镉纳米粒子、铅纳米粒子和铜纳米粒子，其对应相对标准偏差值（以下简称为 R. S. D）是分别显示为 9.3%、7.1%、11.2% 和 10.3%。

[0120] 以下根据本发明的一实施例，使用纳米粒子标记的诊断方法是参考图 5 所示详细叙述。

[0121] 图 5 是显示一种根据本发明具体实施例，使用纳米粒子标记的诊断方法的连续示意图。

[0122] 如图 5 所示,为了诊断检测目的,首先要选择一个要检测的生物材料 (S2100)。例如,当要检测诊断一种特定的疾病时,就要选择一种由对应特定疾病所引起的特定蛋白质。

[0123] 然后,要选择一种具有可特定键结到此要检测生物材料的能力的生物材料结合材料 (S2200)。例如,当要检测一种特定抗原时,便选择一种可特定地结合至对应的特定抗原的抗体,以作为生物材料结合材料。

[0124] 然后,根据本发明具体实施例所获得的纳米粒子是键结到此生物材料结合材料,以形成一种纳米粒子-生物材料复合物 (S2300)。因为形成此纳米粒子-生物材料复合物的方法已经详细描述于上,此详细的描述在此将予以省略。

[0125] 将所形成的纳米粒子-生物材料复合物与一要检测的样本混合,使得要检测的生物材料与纳米粒子-生物材料复合物之间的键结反应被诱导出来 (S2400)。

[0126] 完成键结反应之后,此纳米粒子-生物材料复合物特定地键结至要检测的生物材料上是被加以分离及鉴别 (S2500)。

[0127] 将此已分离的纳米粒子-生物材料复合物溶解于含水硝酸溶液 (aqueous nitric acid solution) 中,将纳米粒子分离出来 (S2600),且此纳米粒子的特征电流峰值是使用电化学检验方式来测量 (S2700)。由于此种电化学检验方式已经详细描述于上,其详细说明在此将予以省略。

[0128] 然后,将对应于纳米粒子所测量到的电流峰值加以分析,以便将对应的纳米粒子的身份推断出来 (S2800),且键结于此纳米粒子的生物材料可通过由推断出来的纳米粒子而推断出来 (S2900)。基于已推断出来的生物材料的存在与否以及生物材料的浓度,特定疾病从一开始便可以被诊断出来。

[0129] 以下根据本发明的具体实施例,使用的纳米粒子标记的诊断装置将参考图 6 到图 12 以详细说明。

[0130] 图 6(a) 是显示一种单次使用性的滴液管式 (dripette-type) 诊断装置 400,其是连接至一架子式承载容器 (rack-type docking container) 500。图 6(b) 是说明包括一单次使用性吸头 (disposable tip) 300 及一本体 200 的一微量吸液管 (micropipette) 式诊断装置的主要组件示意图。首先,此单次使用性滴液管式诊断装置将参照图 6(a) 详细说明,此种诊断装置 400 包含一吸取装置 (suction device) 10,用以抽取生物样本;一样本入口 (sample inlet) 20;一连接件 40,用以连接至架子式承载容器 500,此架子式承载容器 500 内包含有一恒电位器 (potentiostat);以及一个三极管电极 30。此种单次使用性滴液管式诊断装置 400 可包含有一微孔膜,用以去除生物样本中的杂质。此微量吸液管式诊断装置将参照图 6(b) 详细说明,此微量吸液管式诊断装置包括一单次使用性吸头 (disposable tip) 300,其具有一样本入口 20,以及一三极管电极 30;并包括一内含有恒电位器的本体 200,其是包含一吸液管模块 11,此吸液管模块 11 具有包含如弹簧和齿轮等各种部分;一连接件 40 是连接至单次使用性吸头 300;一移动式电路 90 以及一显示模块 100。单次使用性吸头 300 可以包含一微孔膜来去除生物样本的杂质。

[0131] 图 7 是显示一种单次使用性滴液管的具体结构模型示意图,此单次使用性滴液管中的吸取装置是使用一种弹性材料所制成。因此,当以手动加压推挤吸取装置时,便可以从单次使用性滴液管推挤出材料,当手动所施加的压力减少时,此吸取装置利用弹力而回复至原先的状态,同时会抽取材料进入此单次使用性滴液管中。微孔膜 15 是用来自生物

样本中去除杂质。三极管电极包含细胞含网版印刷 (screen-printed) 工作电极、工作电极 (W)、辅助电极 (R) 以及参考电极 (C), 且其是透过连接件 40 连接至内含有一恒电位器 (potentiostat) 的架子式承载容器 500。一反应器 60 是由 A 和 B 两部件所组成, 部件 A 包含一种试剂, 其中包含有一种抗体和磁性粒子, 此部件 A 是用以混合样本与试剂。部件 B 是一分析容器, 其中包含有一种缓冲溶液。

[0132] 图 8 是显示一种架子式承载容器, 其是连接单次使用性滴液管 400。图 8(a) 是显示包含有反应器 60 的架子式承载容器 500 的透视图。图 8(b) 是显示一种架子式承载容器的剖视图。此架子式承载容器 500 是具有一磁体件可使用磁力选择性地只隔离特定的抗体-键结磁性粒子复合物。

[0133] 图 9 是显示根据本发明使用一生物传感器来免疫分析一病患的尿液样本 (尿蛋白) 的步骤。

[0134] 图 10 是显示最简单的自我生物分析系统的结构示意图, 其是包含一单次使用性容器及一具有电极依附在其中的塞子。在此诊断装置中作为生物样本贮存容器的塞子部分 110 具有一个三极管电极 30 和一连接至外部电位恒定器的连接件 40。

[0135] 图 11 是显示以阳极剥离电流信号作为三种抗原物质的浓度增加的函数的坐标图, 其是根据本发明利用一吸液管式传感器同时分析出来的。

[0136] 图 12 是显示本发明所应用的诊断装置的各种生物传感器模型的结构示意图。图 12(a) 是一微量吸液管和一磁性分离器互相整合的模型, 而不需要独立设计一外部磁性分离器。图 12(b) 是一用于测量血液中的生物分子的模型, 在图 12(b) 的模型中, 样本收集是使用如现有注射器的相同原理来执行完成, 且生物分析和诊断在收集血液的际同时完成。图 12(c) 是显示一电极单元成型于一单次使用性注射器中的模型, 而图 12(d) 则是显示一种在图 12(c) 所示模型中配备有一磁性分离器控制杆的模型。

[0137] 【发明模式】

[0138] 以下, 一微数组免疫分析, 其是根据本发明的诊断方法的一实施例, 此微数组免疫分析是使用多个抗体及对应每一抗体的纳米粒子标记物来实现, 将详细说明如下。

[0139] 首先, 将 $100\ \mu\text{l}$ 的 PBST [磷酸盐缓冲盐, 包含 0.05(v/v) 的 Tween 20, pH 值 (酸碱值) 7.2] 缓冲液分配于 BD BioCoat 链霉抗生物素蛋白 (streptavidin) 分析盘的每一个孔洞 (well) 中大约 15 分钟, 直至此分析盘达到平衡为止。然后, 每一孔洞以 $100\ \mu\text{l}$ 的 TTL 缓冲液 [100mM 的三羟甲基氨基甲烷 - 盐酸 (TrisHCl), pH 值为 8.0, 0.1% 的 Tween 以及 1M 氯化锂 (LiCl)] 清洗。每一个之前所获得的纳米粒子标记抗体被稀释为浓度 1000mg/l, 并将每 $4\ \mu\text{l}$ 的稀释液与 $84\ \mu\text{l}$ 的 TTL 缓冲液混合, 并在室温下摇动 (100rpm) 培养 30 分钟。然后, 将表面悬浮物 (supernatant) 抽引分离, 且每一孔洞是以 $100\ \mu\text{l}$ 的 TTL 缓冲液 (250mM 的 TrisHCl, 0.1% 的 Tween 20) 清洗两次。

[0140] 接着, 将具有各自不同抗原浓度的每一个为 $5\ \mu\text{l}$ 的四种抗原加入至 $80\ \mu\text{l}$ 的 TTL 缓冲液 (750mM 的氯化钠, 150mM 的柠檬酸钠) 中, 并分配在具有已取得抗体于上的微孔洞中, 然后培养 30 分钟, 使得每一抗原可与对应的取得抗体互相反应。然后, 每一孔洞是以 $100\ \mu\text{l}$ 的 TTL 缓冲液清洗的。

[0141] 接续, 将上述经过预处理后的纳米粒子标记抗体溶解在 $100\ \mu\text{l}$ 的 TTL 缓冲液中, 并将此纳米粒子标记抗体溶液加入至此取得了抗原的孔洞中, 培养 30 分钟来完成抗原-抗

体反应。之后,每一孔洞是以 100 μ l 的 TTL 缓冲液清洗的。

[0142] 下列表二是显示取得抗体 (anti- β_2 -MG, anti-Mb, anti-HAS and anti-CRP) 与纳米粒子标记抗体 (ZnS-anti- β_2 -MG, CdS-anti-Mb, PbS-anti-HSA, and CuS-anti-CRP), 其是分别对应所使用的抗原 (β_2 -MG, Mb, HSA, and CRP)。就此而言,此些取得抗体 (anti- β_2 -MG, anti-Mb, anti-HSA, and anti-CRP) 是被生物素化 (biotinylated)。

[0143] 表二

[0144]

抗体	取得抗体	纳米粒子-抗体复合物
β_2 -MG (Ag ₁)	Anti- β_2 -MG	ZnS-anti- β_2 -MG
Mb (Ag ₂)	Anti-Mb	CdS-anti-Mb
HSA (Ag ₃)	anti-HSA	PbS-anti-HSA
CRP (Ag ₄)	anti-CRP	CuS-anti-CRP

[0145] 然后,将每一复合物在 20 μ l 的 1M 硝酸水溶液中搅拌 3 分钟,使此纳米粒子-抗体键结于孔洞。之后,将包含有 10ppm 汞原子吸收参考溶液的 1ml 醋酸盐缓冲液 (0.1M, pH 4.5) 加入至此经溶解的纳米粒子标记中,而此醋酸盐缓冲液是可测量所有用在本实施例中的四种金属,且每一金属纳米粒子的特征电流峰值是使用上述的电化学检验测量出来。

[0146] 从上述表一可知道, ZnS-anti- β_2 -MG 的检测限制为 10.6ng/ml, CdS-anti-Mb 的检测限制为 9.5ng/ml, PbS-anti-HAS 的检测限制为 9.8ng/ml, 以及 CuS-anti-CRP 的检测限制为 12.1ng/ml, 由此可知, 根据本发明实施例的电化学检验的检测限制是非常低的。

[0147] 因此,当来自典型蛋白尿病患的尿液中所检测到的蛋白质浓度范围 (40-120mg/l) 在诊断中被视为危险等级的指针范围时, 即使疾病因素的浓度非常低, 使用本发明纳米粒子标记也可以检测出来, 因为纳米粒子标记的检测限制是远低于该浓度范围。

[0148] 当使用脱氧核糖核酸作为一分析性材料时, 此传感器的效能亦与前面所述大同小异。尤其是, 当根据本发明实施例的纳米粒子标记结合至可用以检测导致膀胱癌、乳癌或其它类似的癌症基因的探针, 然后再用来诊断, 此癌症基因可很高明地被诊断出来。

[0149] 同时, 对于更高敏感性而言, 可以使用尺寸与形状轻微增加了的双金属纳米粒子 (例如 CdS/ZnS 核心/外壳结构)。此双金属纳米粒子是利用二种纳米粒子互相结合而取得。特别是, 尺寸增加了的合金纳米粒子结构是由一种纳米粒子的外壳结合另一种纳米粒子的核心所形成。此双金属纳米粒子包含硫化镉/硫化锌 (CdS/ZnS)、硫化镉/硫化铅 (CdS/PbS) 及硫化铜/硫化锌 (CuS/ZnS), 所有都是形成一核心/外壳结构。

[0150] 如上面所述, 本发明提供一种使用纳米粒子标记作为信号标记的定量分析待检测生物材料的方法。利用数量上来检测特定生物材料, 例如上面所述在特定样本中的抗体或脱氧核糖核酸, 是可用来诊断于一目标中特定疾病的存在或不存在。

[0151] 因此, 可以制作一诊断试剂套件来诊断或检测一特定疾病, 包括本发明的纳米粒子标记、测量纳米粒子的装置以及将测量结果转换成数字信号的装置。当使用数字装置例

如条形码如上面所述时,疾病的诊断或检测可以更为容易的实行。

[0152] 在本发明诊断试剂套件中使用的名词“纳米粒子标记(nanoparticlelabel)”是指纳米粒子结合至另一生物材料,以检测一特定生物材料。尤其是,此名词是指纳米粒子结合至一脱氧核糖核酸(DNA)片段,此脱氧核糖核酸(DNA)片段是具有一DNA序列互补于一特定DNA片段,为的是要检测此特定DNA片段。以另一范例而言,此名词表示纳米粒子结合至一特定抗体,此特定抗体特别结合至特定抗原,为的是要检测此特定抗原。

[0153] 在本发明诊断试剂套件中的这些纳米粒子标记是依据要检测的生物材料种类而可以被取代。因此,医学/生物学上不同物质的诊断,包含DNA和RNA分子(基底序列变化的预测)、胜肽(peptides)、癌症标记物、药物(麻醉剂)、微生物(0157细菌、食物中毒细菌、以及梅毒螺旋体(*Treponema pallidum*)等,用同一个诊断试剂套件就可以完成,而只要更换纳米粒子标记。

[0154] 在本发明诊断试剂套件中用以测量纳米粒子的装置并没有特别限制,只要能实践如同上面所述的电化学检验即可。

[0155] 又,用于转换测量的结果为数字信号的装置也可以为一个输出上面所述条形码的装置,但并非仅限制于此,亦可与最新的无线行动信息技术整合,包含GSM(全球行动通讯系统)、蓝牙(Bluetooth)、无所不在网络(Ubiquitous)以及码分多址(code division multiple access, CDMA)。

[0156] 当一特定样本的诊断结果输出为如上所述的条形码时,诊断试剂套件的使用者可以通过由医院所设置的条形码读取器或类似者来读取此输出条形码,可快速了解此诊断结果。当诊断结果输出为如上所述的数字信号时,诊断结果可以透过有线或无线通讯方式传输至远程(remote site)。因此,具有可评估诊断结果系统的远程可以接收来自诊断试剂套件所输出的诊断结果来评估此诊断结果,并将评估结果传回至使用者的诊断试剂套件。如此,本发明的诊断试剂套件不仅可以用于医学及临床应用上,还可用在监视系统,作为环境监控,如水、食物及类似领域,以及生物战、三硝基甲苯(黄色炸药, TNT)、犯罪(麻醉剂)及类似领域,这些领域利用不同的探针。

[0157] 如上面所描述者,根据本发明实施例的纳米粒子标记是方便合成的,且每一个金属纳米粒子具有及显示一特征氧化还原电位,使得多个纳米粒子可以同时被检测。如此,当使用本发明实施例的纳米粒子标记时,可以检测一些生物材料,并可诊断试剂套件微型化。

[0158] 本发明使用的生物传感器是以下列方式制作而成。

[0159] 如图6(a)所示,将网版印刷三极管电极插设在广泛应用于现有技术的一单次使用性滴液管中的适当位置。一外部恒电位器是连接至此单次使用性滴液管,如此,便制造一生物传感器,其可将样本容器中尿蛋白进行定量分析。此生物传感器可以使用磁力来选择性只分离特定抗原键结磁性粒子合成物,因此可仅利用吸液管来注射和抽取液体的一个步骤,即可完成免疫分析程序。于此,该滴液管是由低密度且透明的聚乙烯制成,且具有一体成形结构,其是一球状物结合滴液管组成。具有低亲和力的表面材料可以防止于蛋白质与外面物质键结产生的杂质附着,并提供一个固定吸取及滴下的体积大小为25mL。

[0160] 如图6(b)所示,根据本发明,一生物传感器的制作是放置一恒电位器模块在一广泛应用于现有技术的微吸液管中,并插入一电极至一单次使用性吸头中。此生物传感器可

使得一病患的样本更为容易的进行定量分析及观察。在此范例中,一行动模块被放置于该吸液管。

[0161] 另外,根据本发明,一单次使用性三极管电击是插设在现有单次使用性玻璃管容器的塞子中,此包含有试剂与样本的玻璃容器就被塞子覆盖住。然后,此玻璃容器会依附在一磁性平台。根据此样本过程,即完成诊断。

[0162] 又,如图 11 所示,金属纳米粒子的电压特征 (voltage signature) 将以下列方式检测。在本发明中,为了可以获得非重迭性的一片半导体纳米粒子追踪物 (tracer),考虑一高选择性的生物检验,选择采用硫化锌、硫化铅及硫化镉纳米粒子。所观察到对于抗原的这些金属离子的电流峰值是分别在电压 -1.12V (锌)、 -0.68V (镉) 及 -0.53V (铅)。

[0163] 再者,使用本发明生物传感器的电化学多重免疫分析是以下列方式予以实现。首先,根据方波阳极剥离电压 (SWASV),一 $2 \times 4\text{mm}$ 网版印刷碳 (Acheson-ink) 工作电极、一个银 / 氯化银参考电极 (CH Instruments, Astin, Texas) 和一个白金辅助电极是用于一个 1.5ml 的玻璃单元上。此方波阳极剥离电压 (SWASV) 是使用覆盖有铋离子的网版印刷碳板电极来完成。

[0164] 如图 1 所示,在容器 A,量子点 - 抗原 (QD-antigen) 纳米复合物是预处理在 0.6 伏特下持续 1 分钟,然后在 -1.4 伏特下积聚 (accumulate) 1 分钟。此时,缓冲液,使用图 1 在容器 B 中的 1ml 的醋酸盐缓冲液 (pH 值为 4.5),闲置 5 秒无须搅拌之后剥离即完成了。在此过程中,是使用下列装置操作参数:电位范围为 1.2 伏特到 0.12 伏特间;一步阶电位为 50 毫伏特;强度等级为 20 毫伏特;以及频率为 25 赫兹 (Hz)。

[0165] 关于此生物传感器的效能,为了检测一抗原 - 抗体交叉反应 (crossreactions) 作为负信号,非特定抗原、血红素 (hemoglobin, Hb) 及牛血清蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 都被加入至一样本中来测量信号,使得几乎微不足道的信号都会在此样本中检测出来。此些信号几乎与无抗原的样本中杂质信号相类似。因此,可见本发明的生物传感器是具有高敏感性以及有效移除非特定信号的高选择性,并显示在实际诊断时的高效率。在此范例中,在此样本中所检测的电位分别为 -1.11 伏特 (b2-MG)、 -0.67 伏特 (Mb) 及 -0.45 伏特 (HSA),并显示稳定信号 (参见图 11)。

[0166] 透过 TEM 电子显微镜可以观察到纳米晶体粒子的尺寸与形状,结果显示,硫化镉、硫化锌及硫化铅纳米晶体粒子显示出的尺寸分别大约为 3.9nm 、 4.5nm 及 15.7nm 。此最终电压峰值的强度与位置是与该等抗原的浓度一致,由此可知,一多重目标定量分析可以轻易地完成。换言之,当抗原增加如图 11 (25 - 125ng/ml) 所示时,可以预测出肾脏及心血管疾病的浓度等级增加。图 11 是显示阳极剥离电流信号作为三种抗原物质浓度增加的函数坐标图,其是使用本发明吸液管式传感器来同时分析。在峰值电压范围之间 (镉和锌峰值间的范围或是铅峰值接着的范围) 的平坦基线可以获知, 6 - 8 种抗原可以被同时分析 (参见图 11)。对于此抗原所增加数量的分析,可以使用镓、铜、砷、铈或铋金属粒子。

[0167] 再者,传感器的稳定性是可透过重复测试 5 次来评估。结果显示,在一包含有三种不同抗原的样本中,其浓度为 100ng/ml (level 4) 时,传感器显示出很高的可再现性 (reproducibility)。如下列表三所示,显示锌、镉及铜的标准偏差值 (R. S. D.) 分别为 9.3% 、 7.1% 及 11.2% 。

[0168] 表三

[0169]

分析物质	量子点电位 (V)	检测限制	R. S. D. (%)
β_2 -MG (Ag1)	-1.11	10.6	9.3
Mb (Ag2)	-0.67	9.5	7.1
HSA (Ag3)	-0.45	9.8	11.2

[0170] 当从典型蛋白尿病患的尿液中所检测到的蛋白质浓度范围 (40-120mg/L) 时, 在诊断中是可被视为危险等级的指针范围, 本发明传感器显示在此 25ng/ml 的抗原样本的检测限制为 10.5ng/ml。此结果显示, 本发明传感器可以检测很低浓度的疾病因素, 甚至其浓度范围远低于病患危险等级的浓度。另外, 如图 11 所示, 可以证明信号与抗原浓度的增加是成正比的。再者, 相较于那些已发表过有关光学免疫传感器的文献而言, 这个低检测限制显示出敏感性和选择清晰度是大幅增加了。对于更高敏感性的放大而言, 在未来也可以选择使用具有可控制尺寸与形状的双金属纳米粒子 (例如 CdS/ZnS 核心 / 外壳结构)。

[0171] 使用本发明生物传感器, 在条形码、射频识别 (RFID) 及无所不在 (ubiquitous) 系统的信号处理可以下列方式实现。所取得的模拟信号会通过由数字信号处理予以数字化, 并使用这些条形码、射频识别及无所不在系统在医学诊断与通讯上。在多任务电子蛋白质编码而言, 一免疫分析的多重样化还原反应编码 (multi-redox coding) 是在精确控制浓度下的三种不同量子点粒子上实行。这些粒子的电子维持性 (electrical tenability) 对于此电化学多任务方法的最佳化是有所贡献的。

[0172] 快速制作读取条形码的数字信号处理是以数字程序来实行, 将取得的线性模拟编码信号数字化为条形码。指定的灵活频带宽度是置于传感器内侧及外侧的物理传感器模块予以数字化, 且实际病患样本可透过数据库再予以确认。另外, 脱氧核糖核酸、核糖核酸、细胞及蛋白质的频带宽度可以使用广泛应用在移动电话技术的码分多址 (CDMA) 技术来分离的。

[0173] 以上所述的实施例仅为说明本发明的技术思想及特点, 其目的在使熟习此项技艺的人士能够了解本发明的内容并据以实施, 当不能以的限定本发明的专利范围, 即大凡依本发明所揭示的精神所作的均等变化或修饰, 仍应涵盖在本发明的专利范围内。

[0174] 【工业应用】

[0175] 如上面所述, 本发明提供一种医学数字处理式的重点照护检验装置, 以执行关于生物材料的多任务分析, 此多任务分析是使用一种方便使用而又小型的电化学传感器。此一系统是一种生物传感器, 可以应用于物质的广谱诊断, 包含有蛋白质、脱氧核糖核酸、病毒和细菌, 只要透过取代探针来完成。在此同时, 本发明是一种可将分析时间和过程大幅简化的便利性诊断装置。还可以满足小型诊断系统的所有需求, 包含手提式、电池供电式、实时性和方便使用等特性, 这些都是先进的电化学测量系统的优先基本特性, 并大幅地减少其它装置的缺失而又同时具备了显著的敏感性。

[0176] 而且, 一种通过由条形码无线遥控通讯的医学信号通讯系统, 是本发明的生物传感器的核心技术, 其具有重要的影响, 主要在于可以轻易的早期监控病人在分子层级的实

时状况,并可将监控所得结果作为可用信息。并且,它可将病人病况的临床信息快速地交换,也因此有效降低许多在医院诊断之前所造成的缺失。此外,对于不同的生物材料包含脱氧核糖核酸、蛋白质、胜肽和荷尔蒙受器等,只要替换传感器探针即可,本发明的生物传感器是适用于医学/生物检测不同的分析物,包含有蛋白质、脱氧核糖核酸和核糖核酸分子、胜肽和微小有机物。而且,本发明预期会应用在污染源检测的环境领域,如水和其类似物;本发明也预期会广泛应用在食品业评鉴食品的质量和食品毒性的检测。另外,在军队与警察部份,本发明预期会广泛应用在生化战争发生的检查,以及恐怖行动与犯罪行为的检查,以及早期预警系统。

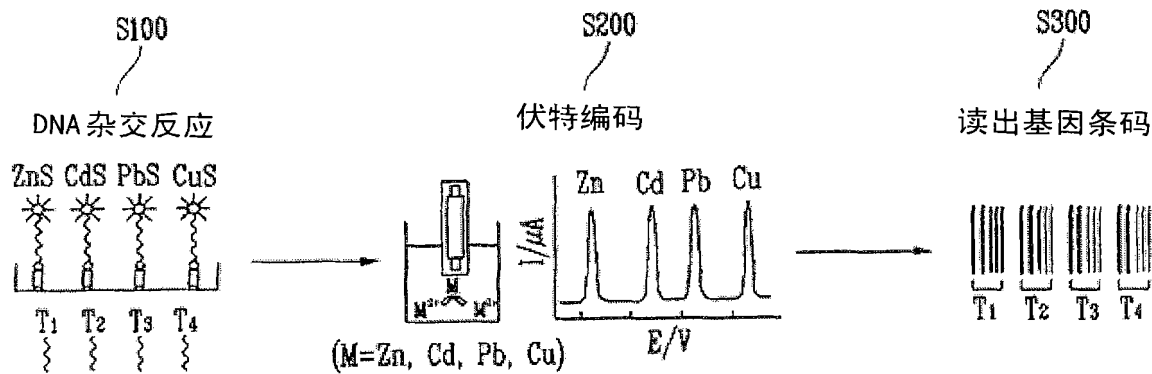


图 1 (a)

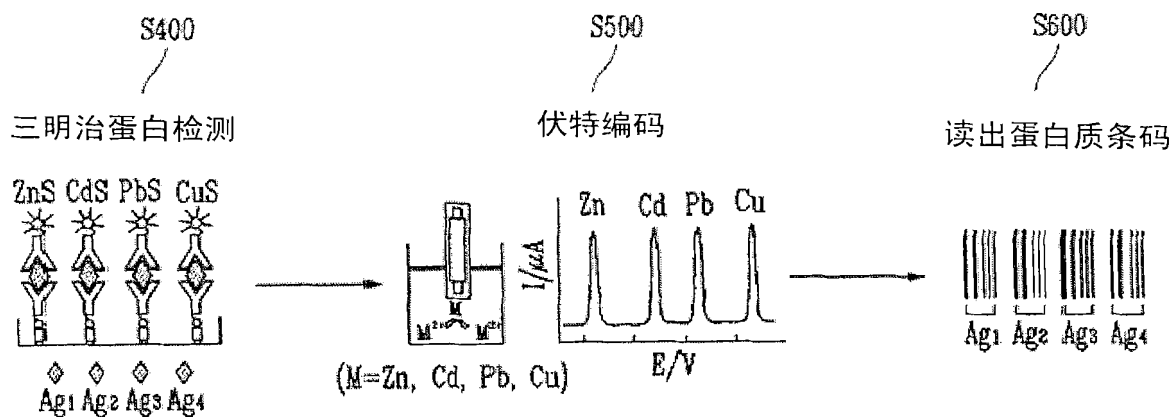


图 1 (b)

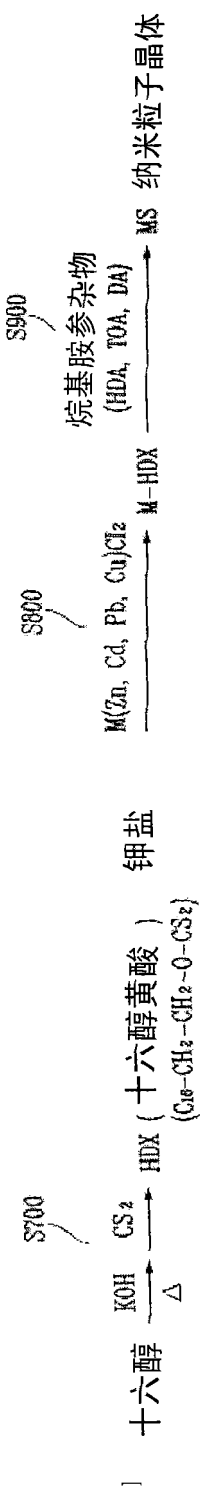


图 2

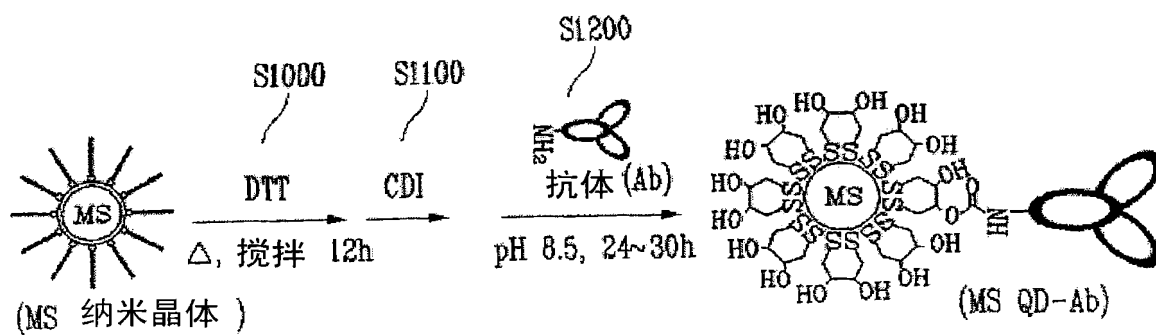


图 3 (a)

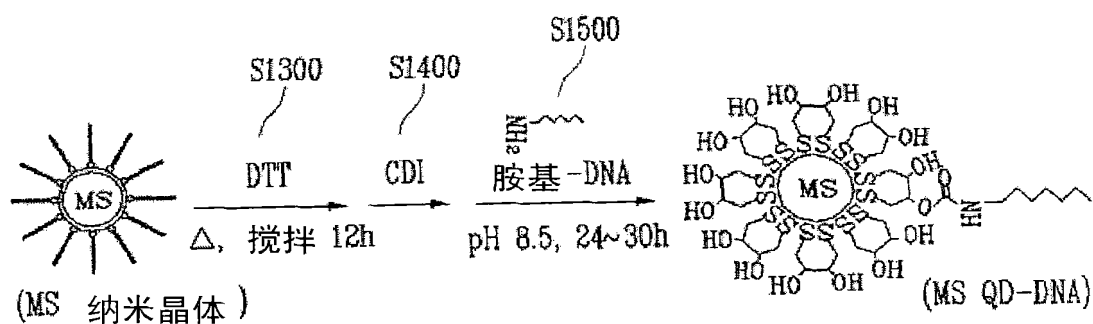


图 3 (b)

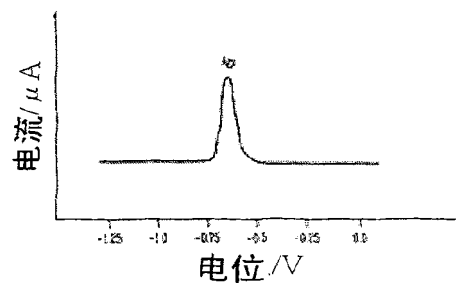
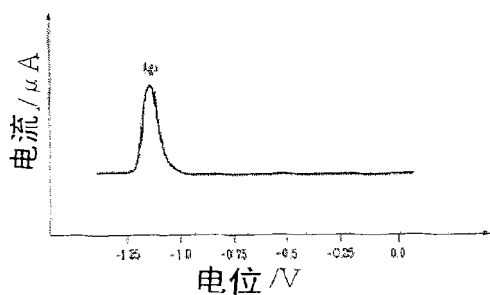
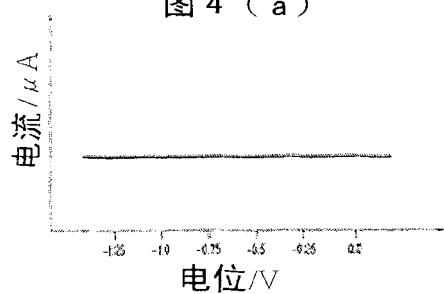
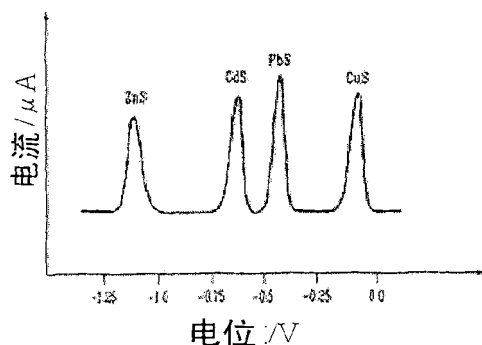


图 4 (d)

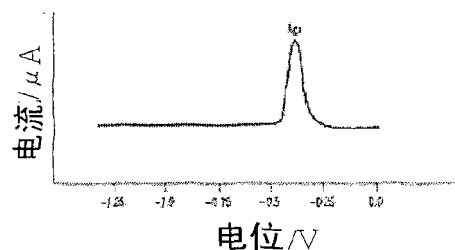


图 4 (e)

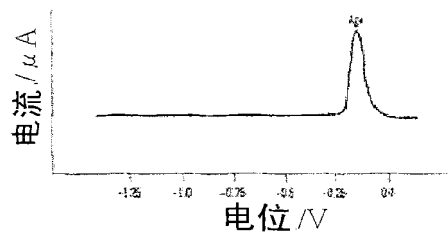


图 4 (f)

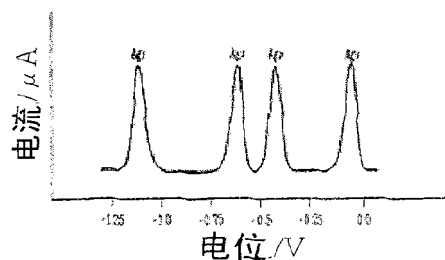


图 4 (g)

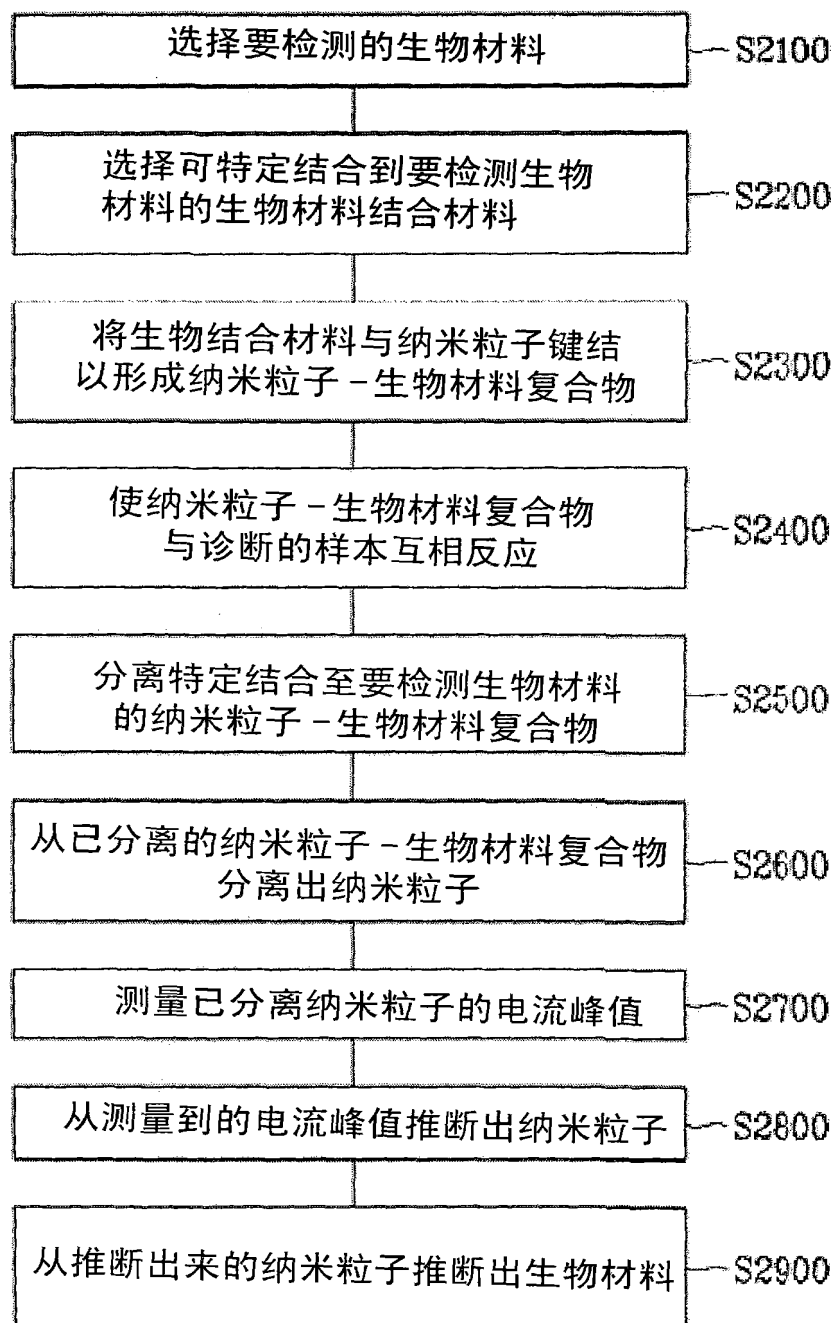


图 5

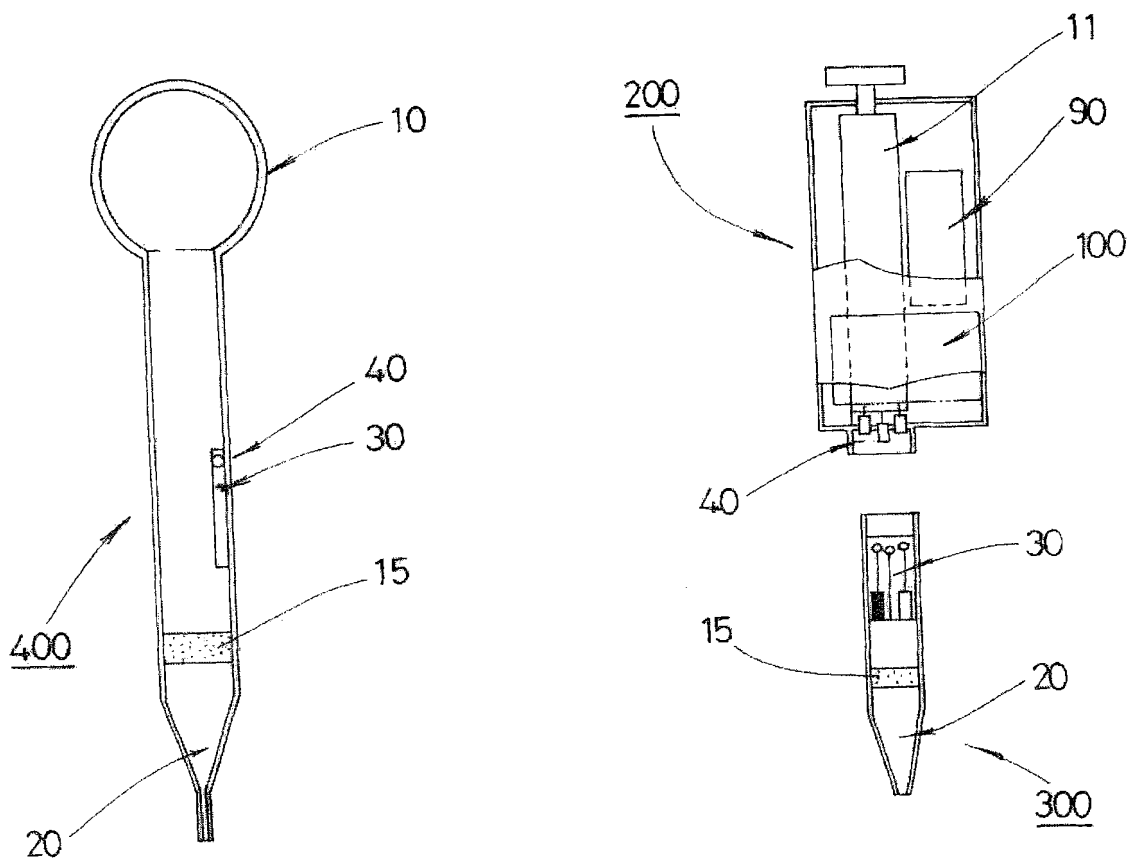


图 6 (a)

图 6 (b)

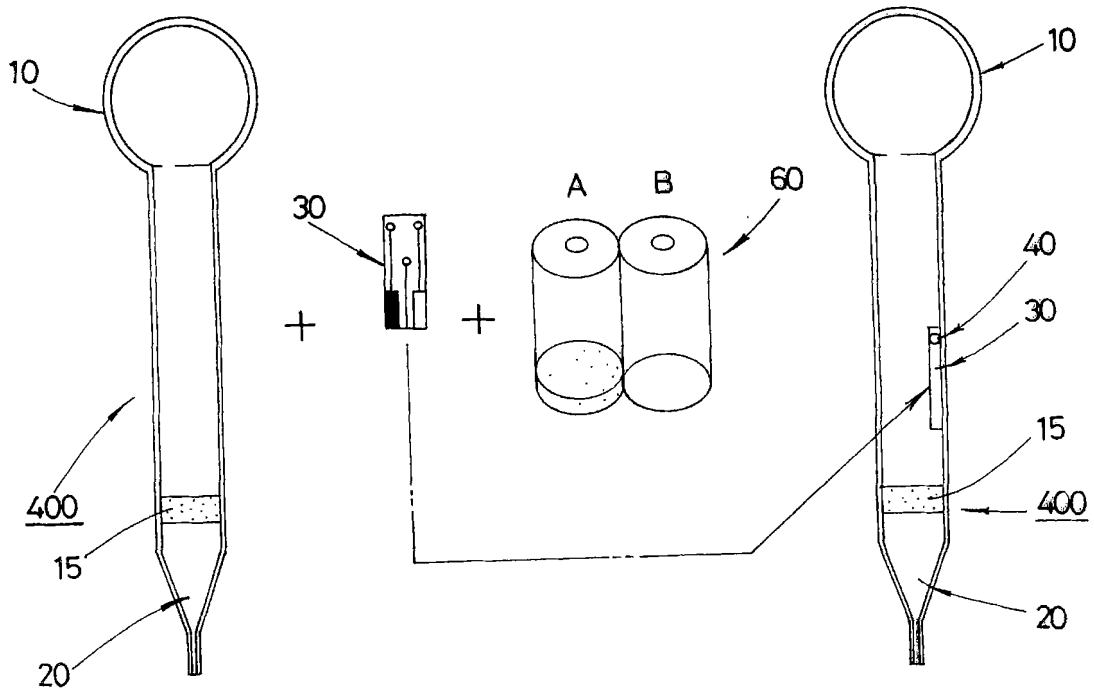


图 7

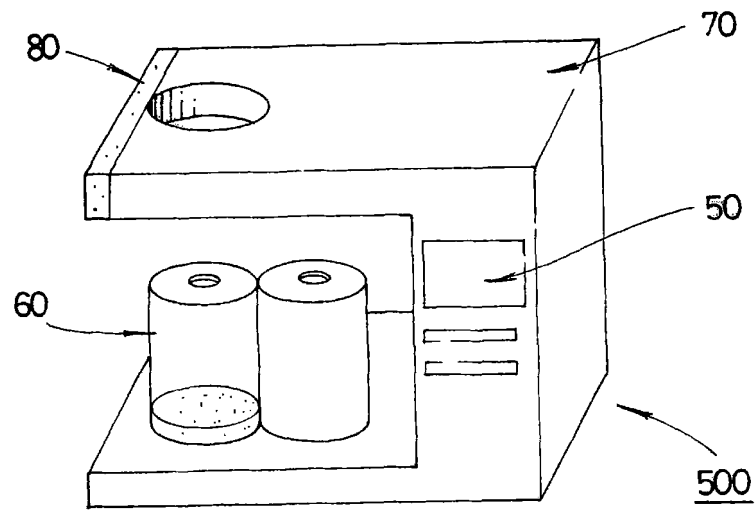


图 8 (a)

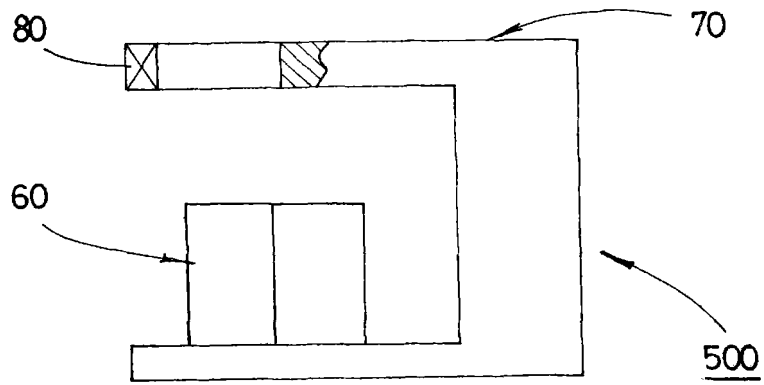


图 8 (b)

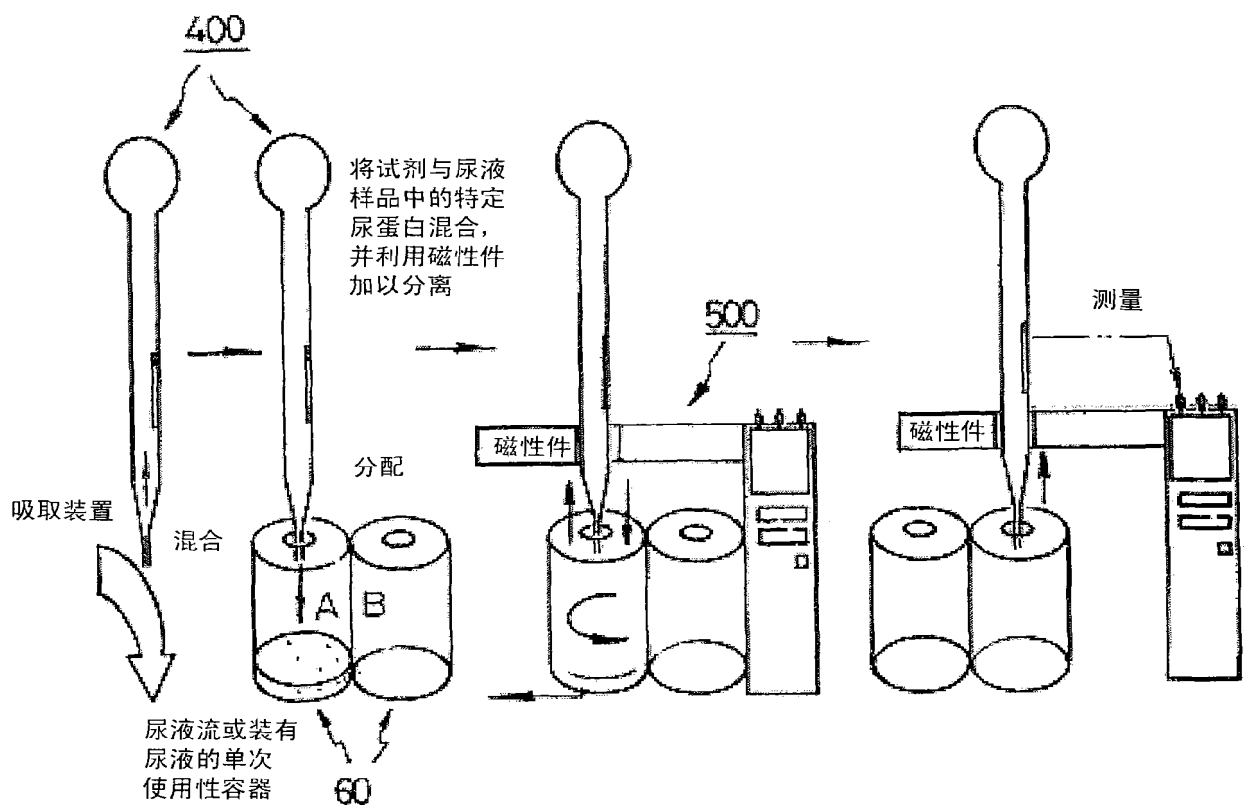


图 9

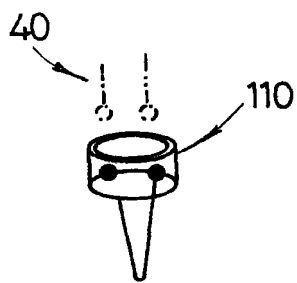


图 10 (a)

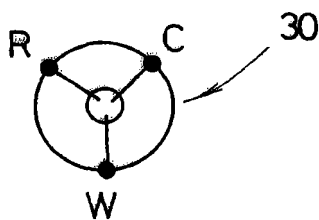


图 10 (b)

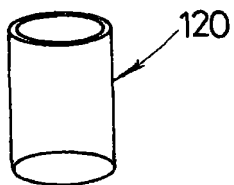


图 10 (c)

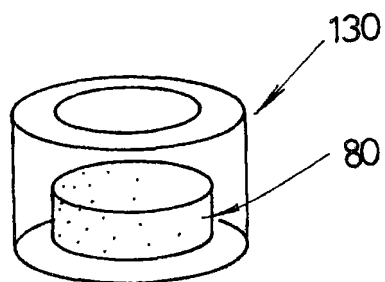


图 10 (d)

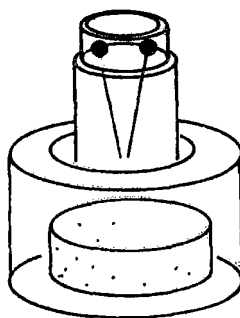


图 10 (e)

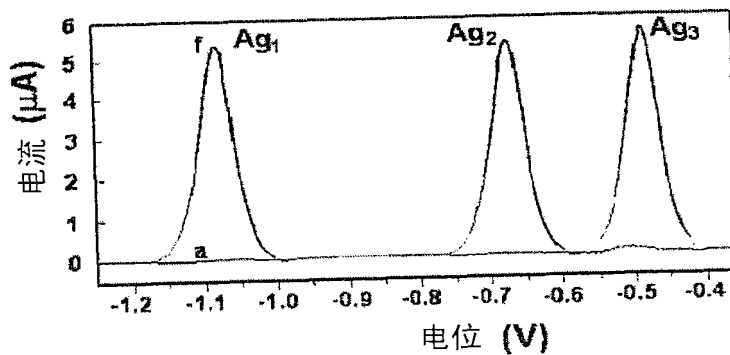


图 11

