



(21)申請案號：099100363

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 01 月 08 日

(51)Int. Cl. : G01N33/553 (2006.01)

(30)優先權：2009/02/27 美國 12/394,043

(71)申請人：洪振義 (中華民國) HONG, REX CHIN YIH (TW)

臺北市中山區大直街 57 巷 31 號 4 樓

洪姮娥 (中華民國) HORNG, HERNG ER (TW)

新北市林口區民富街 97 號 12 樓之 1

楊鴻昌 (中華民國) YANG, HONG CHANG (TW)

臺北市中山區大直街 57 巷 31 號 4 樓

楊謝樂 (中華民國) YANG, SHIEH YUEH (TW)

新北市新店區溪園路 447 號 2 樓

(72)發明人：洪振義 HONG, REX CHIN YIH (TW)；洪姮娥 HORNG, HERNG ER (TW)；楊鴻昌 YANG, HONG CHANG (TW)；楊謝樂 YANG, SHIEH YUEH (TW)

(74)代理人：詹銘文；蕭錫清

(56)參考文獻：

Chin-Yih Hong et al., "Wash-free immune-magnetic detection for serum through magnetic susceptibility reduction", Applied Physics Letters. 90, 074105 (2007)

H. E. Horng et al, Biofunctionalized magnetic nanoparticles for high-sensitivity immunomagnetic detection of human C-reactive protein, Applied Physics Letters. 88, 252506 (2006)

審查人員：林奕萍

申請專利範圍項數：9 項 圖式數：10 共 0 頁

(54)名稱

測量材料之交流磁化量之裝置與檢測生物分子之方法

DEVICE FOR MEASURING AC MAGNETIZATION OF MATERIALS AND METHOD FOR DETECTING BIO-MOLECULES

(57)摘要

一種用以在樣本中定量測量生物分子數量的方法，包括提供具有磁性奈米粒子之溶液；在溶液中之磁性奈米粒子的表面塗佈生物探針分子；在混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 的混合磁場下，測量溶液之第一交流磁化量，其中 γ 及 β 為大於零的獨立整數；添加包含待檢測之生物分子的樣本於溶液中，據以使得樣本中的生物分子與塗佈於磁性奈米粒子之生物探針分子複合；以及在添加並培育樣本後，測量溶液在混合磁場下之第二交流磁化量，據以獲得第一交流磁化量與第二交流磁化量差異之混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 的交流磁化量減量，並據以判斷該生物分子之數量。

A method to quantitatively measure an amount of bio-molecules in a sample includes providing a solution having magnetic nanoparticles; coating bioprobe molecules to surfaces of the magnetic

nanoparticles in the solution; measuring a first alternating current (ac) magnetization of the solution at a mixture frequency ($\gamma f_1 + \beta f_2$), wherein γ or β is independently an integer larger than zero; adding a sample containing the bio-molecules to be detected to the solution, so that the biomolecules in the sample conjugate with the bioprobe molecules coated on the nanoparticles; and measuring a second ac magnetization of the solution at the mixture frequency ($\gamma f_1 + \beta f_2$) after adding the sample and incubation, so as to obtain an ac magnetization reduction at the mixture frequency ($\gamma f_1 + \beta f_2$) between the first and the second magnetization to determine the amount of the bio-molecules.

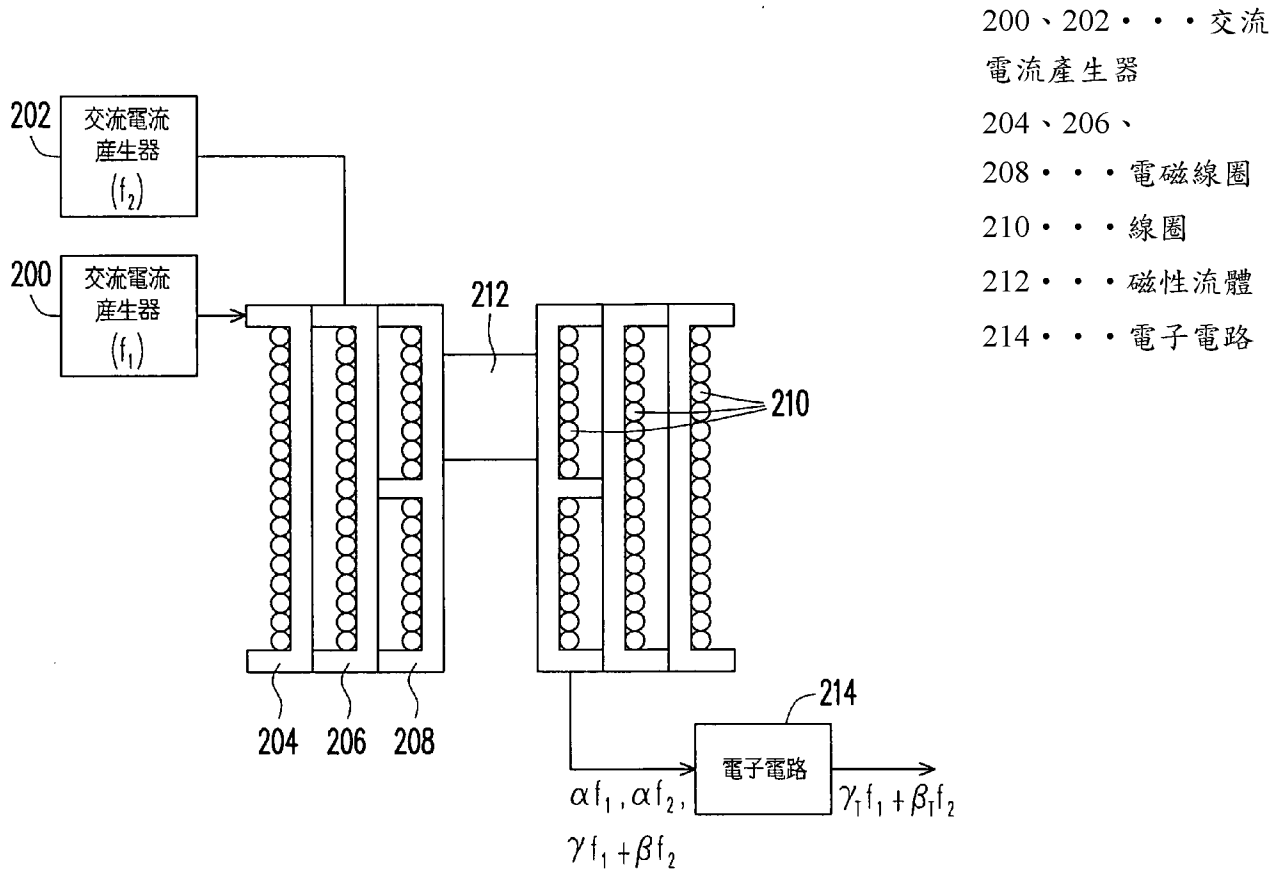


圖 3

發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：99100363

※申請日：99.01.08

※IPC 分類：G01N33/553 (2006.01)

一、發明名稱：

測量材料之交流磁化量之裝置與檢測生物分子之方法 / DEVICE FOR MEASURING AC MAGNETIZATION OF MATERIALS AND METHOD FOR DETECTING BIO-MOLECULES

二、中文發明摘要：

一種用以在樣本中定量測量生物分子數量的方法，包括提供具有磁性奈米粒子之溶液；在溶液中之磁性奈米粒子的表面塗佈生物探針分子；在混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 的混合磁場下，測量溶液之第一交流磁化量，其中 γ 及 β 為大於零的獨立整數；添加包含待檢測之生物分子的樣本於溶液中，據以使得樣本中的生物分子與塗佈於磁性奈米粒子之生物探針分子複合；以及在添加並培育樣本後，測量溶液在混合磁場下之第二交流磁化量，據以獲得第一交流磁化量與第二交流磁化量差異之混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 的交流磁化量減量，並據以判斷該生物分子之數量。

三、英文發明摘要：

A method to quantitatively measure an amount of bio-molecules in a sample includes providing a solution having magnetic nanoparticles; coating bioprobe molecules

to surfaces of the magnetic nanoparticles in the solution; measuring a first alternating current (ac) magnetization of the solution at a mixture frequency ($\gamma f_1 + \beta f_2$), wherein γ or β is independently an integer larger than zero; adding a sample containing the bio-molecules to be detected to the solution, so that the biomolecules in the sample conjugate with the bioprobe molecules coated on the nanoparticles; and measuring a second ac magnetization of the solution at the mixture frequency ($\gamma f_1 + \beta f_2$) after adding the sample and incubation, so as to obtain an ac magnetization reduction at the mixture frequency ($\gamma f_1 + \beta f_2$) between the first and the second magnetization to determine the amount of the bio-molecules.

四、指定代表圖：

- (一) 本案之指定代表圖：圖 3。
- (二) 本代表圖之元件符號簡單說明：

200、202：交流電流產生器

204、206、208：電磁線圈

210：線圈

212：磁性流體

214：電子電路

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：無

六、發明說明：

【發明所屬之技術域】

本發明是有關於一種測量磁性流體之磁化量 (magnetization) 的方法與裝置，且特別是有關於一種測量材料的交流磁化量之裝置與檢測生物分子之方法。

【先前技術】

磁性流體是含有散佈磁性奈米粒子於溶劑的膠體溶液。磁性奈米粒子的材質通常是鐵磁體。因此每個磁性奈米粒子具有永久磁矩。為了穩定地散佈磁性奈米粒子於溶劑中，磁性奈米粒子被以界面活性劑塗佈。舉例來說，採用親水性有機材質的界面活性劑可將磁性奈米粒子散佈於水溶液。借助界面活性劑與奈米等級的尺寸，磁性奈米粒子可個別地分散於溶劑中。基於熱能的原因，獨立磁性奈米粒子具布朗運動。雖然每個磁性奈米粒子是鐵磁體，亦即具有永久磁矩，磁性奈米粒子在零磁場的液體中，其磁矩方向為等向性的分佈，因此使得在液體中之磁性奈米粒子的合成磁矩為零。然而當施加磁場於磁性流體時，每個磁性奈米粒子的磁矩趨於對齊於施加磁場的方向。磁性流體在施加磁場 H 且溫度為 T 的情況下，磁性流體的合成磁矩（以下稱磁化量） M 理論上可用 Langevin 公式表之。

$$(1) \quad M(\xi) = M_0(\coth\xi - 1/\xi)$$

在公式(1)中，其中 $M_0 = Nm$ 為飽和磁化量， N 為磁性奈米粒子的總數， m 為磁性粒子的平均磁矩，且 ξ 可寫成

$$(2) \quad \xi = \mu_0 m H / k_B T,$$

其中 H 為施加的磁場， k_B 波茲曼常數， μ_0 為自由空間的導磁係數， T 為測量溫度。

根據公式(1)與公式(2)，在指定溫度 T 時，磁性流體的磁化量 M 隨著施加磁場 H 的強度增加而單調地增加，且於高磁場 H 's 時達到飽和值。公式(1)中飽和磁化量為 M_0 。當施加的磁場 H 移除時，也就是 $H=0$ 時，則磁性流體的磁化量消失。此種在抑制施加磁場下磁性流體之逆向零磁矩主要是由於獨立的磁性奈米粒子在液體中具布朗運動時，磁性奈米粒子之磁矩方向的隨機化。此特徵稱為超順磁性 (superparamagnetism)。

在磁場僅有幾個高斯的弱磁場且溫度於室溫 (T 約為 300K) 的情況下， ξ 介於 10^{-3} 至 10^{-2} 之間。因此公式(1)的 M 可對於 ξ 為零進行 Taylor 展開式的展開。

$$(3) \quad M(\xi \rightarrow 0) = M(0) + M^{(1)}(0) \cdot \xi + M^{(2)}(0) \cdot \xi^2 + M^{(3)}(0) \cdot \xi^3 \\ + M^{(4)}(0) \cdot \xi^4 + M^{(5)}(0) \cdot \xi^5 + \dots$$

其中 $M^{(n)}$ 為 M 針對 ξ 於 $\xi=0$ 時的第 n 階微分。公式(3)右手側的偶數階微分為零，且 $M^{(1)}=0.32$ ， $M^{(3)}=-0.12$ 。公

式(3)可表示為

$$(4) \quad M(\xi \rightarrow 0) = 0.32M_0\mu_0mH/k_B T - 0.12M_0(\mu_0mH/k_B T)^3 + O^5(\mu_0mH/k_B T) + \dots$$

公式(4)右手側的 O^5 表示 $\mu_0mH/k_B T$ 的五次方項次。若是施加的磁場由交流電產生，且具有頻率 f_0 ，則 M 在頻率 αf_0 的分量不為零，其中 α 為奇數正整數。因此，在頻率 f_0 的弱交流電磁場下，磁性流體的磁化量除了包含 f_0 的頻率外亦有 αf_0 的頻率。

在公式(1)或(4)中， M_0 與獨立磁性奈米粒子總數成比例，且受交流磁場影響。因此，在指定磁性流體的容量與具有頻率 f_0 的固定弱交流電磁場的條件下，當獨立磁性奈米粒子的總數 N 減少時，磁化量 M 之頻譜的 αf_0 分量減少。透過液體中的某些反應使磁性奈米粒子群聚或使磁性奈米粒子變大，可使對於施加交流磁場有響應之獨立磁性奈米粒子之總數 N 減少。舉例來說，某些反應可以為於液體中之生物探針 (bio-probe) 與生物標靶 (bio-target) 的結合。在此情況之下，利用結合到界面活性劑的方法，生物探針被塗佈到個別的磁性奈米粒子。因此，磁性奈米粒子成為具生物機能且可以與複合的生物標靶 (conjugated bio-target) 進行黏合。

例如作為生物探針的抗體塗佈於液體中獨立的磁性奈米粒子。這些生物機能的磁性奈米粒子可與複合抗原

(conjugated antigen) 黏合。因為獨立之磁性奈米粒子的抗體與抗原結合，磁性奈米粒子變成群聚或更大。因此，可對施加某個固定頻率之交流磁場反應的獨立磁性奈米粒子的總數將會減少。據此，當磁性奈米粒子與生物標靶進行黏合時，可推論出生物機能的磁性流體之磁化量 M 之 αf_0 分量的振幅將會降低。更進一步而言，當更多獨立磁性奈米粒子與生物標靶進行黏合時，振幅降低得更多。基於此，生物標靶的總量可透過測量生物機能的磁性流體之磁化量 M 之 αf_0 分量之降低程度來決定。這就是如免疫磁性減量 (immunomagnetic reduction, IMR) 用來做生物檢測技術的基礎機制。

習知裝置提供測量樣本的交流磁化量之實施方式。圖 1 繪示測量磁性流體交流磁化量的習知架構。交流電流產生器 100 以頻率 f_0 驅動激磁電磁線圈 (excitation solenoid) 102，據以產生交流磁場。檢測電磁線圈 (pick-up solenoid) 104 共軸配置於激磁電磁線圈 102 內。檢測電磁線圈 104 可參考為磁量計型式。磁性流體 108 配置於檢測電磁線圈 104 內。線圈 106 由電磁線圈 102 與 104 組成。交流電流產生器 100 施予頻率 f_0 的交流電流於線圈 106 的激磁電磁線圈 102。基於磁場的變化，線圈 106 的檢測電磁線圈 104 可輸出其所產生的感應交流電壓。然而交流電壓的輸出與磁性流體 108 有關。當施予頻率 f_0 的交流磁場時，磁性流體 108 受到感應而產生各種頻率 αf_0 的交流磁化量，其中 $\alpha=1, 3, 5, \dots, n$ 。線圈 106 的檢測電磁線圈 104 檢測交流磁

化量，其中檢測電磁線圈 104 可轉換磁化量為電壓信號。據此，頻率 αf_0 的交流電壓從線圈 106 的檢測電磁線圈 104 輸出至電子電路 110。電子電路 110 處理相對於各種頻率分量的電壓信號，據以獲得目標頻率 $\alpha_T f_0$ 分量的數量。

圖 1 繪示的測量架構有其缺點。首先，除了磁性流體產生的磁化量外，檢測電磁線圈亦可檢測出周邊信號。第二點，激磁電磁線圈 102 所產生之頻率 f_0 的交流磁場也會被偵測到。據此，檢測電磁線圈 104 輸出的頻率 f_0 感應電壓將遠大於其他頻率的感應電壓。電子電路 110 通常具有放大單元藉以放大頻率 $\alpha_T f_0$ 的電壓信號，據以達到高偵測靈敏度。放大單元為運算放大器，且對於輸入電壓有高位準的限制。當輸入電壓過高時運算放大器無法適當地運作。當對頻率 $\alpha_T f_0$ 的輸入電壓進行放大時，頻率 f_0 的輸入電壓亦進行放大。由於運算放大器的高位準限制，頻率 $\alpha_T f_0$ 的電壓信號的放大將受到限制，以保持總輸入電壓低於運算放大器的高位準限制。第三點，當檢測電磁線圈 104 輸出頻率 f_0 的輸入電壓時，基於電子電路子諧波效應，電子電路的輸出電壓具有頻率 $2f_0$ 、 $3f_0$ 、 $4f_0$ 、 $5f_0$ 等等。這些負面因素使得電子電路的周邊信號、激磁場與子諧波影響電子電路於頻率 $\alpha_T f_0$ 輸出的合成電壓。據此，最後頻率 $\alpha_T f_0$ 的電壓將不可靠甚至是錯誤的。

為了克服圖 1 的缺失，亦有其他習知設計用以測量磁性流體的感應交流磁化量。圖 2 繪示於交流磁場下測量磁性流體磁化量的習知架構。請參照圖 2，檢測電磁線圈 120

包括兩部分：上部分與下部分。這兩部分的線圈以相反方向繞線並以串聯方式進行連接。磁性流體 108 配置於兩部分其一，例如配置於上部分。據此，這兩部分可同時偵測周邊信號。電壓可從這兩部分的對外引線感應到，並且相互抵銷。除此之外，透適當安排激磁電磁線圈 102 內之檢測電磁線圈 120 的位置，針對梯度計型式的檢測電磁線圈 120 來說，激磁電磁線圈 120 所產生頻率 f_0 交流磁場的感應電壓可以被消除。在實際應用上，激磁電磁線圈 102 內的檢測電磁線圈 120 的適當安排，並無法完全消除頻率 f_0 的感應電壓。相較於圖 1，圖 2 的測量架構中，電子電路在頻率 f_0 的輸入電壓將會大大地降低。這意味著當使用梯度計型式的檢測電磁線時，電子電路的放大倍率會明顯地增加。然而如同前述，頻率 f_0 的輸入電壓亦產生子諧波信號至輸出端。據此，由樣品獲得的在目標頻率 $\alpha_T f_0$ 的信號通常有不須要的分量。

綜合上述，習知設計可以測量磁性流體的交流磁化量。然而目標頻率限制於 $\alpha_T f_0$ ，為基頻 f_0 的倍數，導致在頻率 $\alpha_T f_0$ 輸出電壓不可靠，且其設計也受限制。

【發明內容】

本發明提供一種用以在樣本中測量生物分子之數量的方法。此方法包括提供具有多個磁性奈米粒子之溶液；塗佈多個生物探針分子於所述在溶液中之磁性奈米粒子的表面；測量溶液在混合磁場之混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 的第一交流磁化

量，其中 γ 與 β 為獨立的正整數， f_1 與 f_2 為兩個變化磁場的不同頻率且用以產生混合磁場；添加含有待檢測的多個生物分子之樣本於溶液，據以使得於樣本中的生物分子與塗佈於磁性奈米粒子之多個生物探針分子複合；在添加樣品並培育後，測量溶液在混合磁場下之混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 的第二交流磁化量，據以獲得混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 的交流磁化量減量，其中交流磁化量減量為第一交流磁化量與第二交流磁化量之差異，據以判斷該生物分子之數量。

本發明提供一種裝置用以測量混頻交流磁化量。裝置包括交流產生單元用以產生至少第一交流電流與第二交流電流，其中第一交流電流具有頻率 f_1 ，第二交流電流具有頻率 f_2 ；共軸電磁線圈單元被第一交流電流與第二交流電流驅動以產生第一磁場與第二磁場；梯度計型式的檢測電磁線圈被配置於共軸電磁線圈單元內，其中樣本被配置於檢測電磁線圈內用以偵測樣本之交流磁化量。輸出為多個頻率分量的信號，其中多個頻率分量信號對應於頻率 f_1 與頻率 f_2 之各種組合；信號處理電路用以接收多個頻率分量信號，其中信號處理電路處理多個頻率分量信號，以獲得樣本於目標頻率 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 的交流磁化量，其中 γ_T 與 β_T 為正整數，且頻率 f_1 與頻率 f_2 為不同頻率分別由第一及第二交流電流所產生。

本發明提供一種方法用以建立交流磁化量減量與生物分子濃度之關係，其中交流磁化量減量為待測樣本在添加已知濃度之生物分子且經培育之前與之後所測量之交流

磁化率之差值。此方法包括預備多個樣本，其中每個樣本包括具有塗佈多個生物探針分子之多個磁性奈米粒子的溶液與已知生物分子濃度的溶液，其中每個樣本具有不同生物分子濃度；針對每個樣本測量交流磁化量減量；交流磁化量減量之數據以 S 形公式(Sigmoid function)進行配適(fitting)。S 形公式例如是

$$(5) \quad \text{IMR} (\%) = \frac{A-B}{1+\left(\frac{\phi}{\phi_0}\right)^\rho} + B,$$

其中 IMR 為交流磁化量減量之百分比， ϕ 為每個樣本中生物分子濃度，且 A、B、 ϕ_0 與 ρ 為多個配適參數用以配適 S 形公式據以獲得已配適曲線；以及根據 S 形公式之已配適曲線，針對待測樣本所測量之交流磁化量減量(IMR)以獲得目標生物分子濃度。

本發明提供一種方法用以觀察在樣本中生物探針與生物分子之間之反應。方法包括提供具有多個磁性奈米粒子之溶液；塗佈多個生物探針分子於在溶液中之多個磁性奈米粒子的之表面；添加包括待測的生物分子之樣本至溶液並給予培育期；以及測量溶液在混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 之交流磁化量隨時間的變化，其中 γ 與 β 為獨立且大於 0 的整數， f_1 與 f_2 為兩個不同頻率，其中交流磁化量於初始狀態與完全反應狀態時為穩定，且於初始狀態與完全反應狀態之間具有差值。

前述的總體說明與後述的詳細說明為示範性說明，並提供本發明更進一步解釋。

本說明書所包括的伴隨圖式用以讓本發明更明顯易懂，且整合與作成本說明書。圖式解釋本發明多個示範實施例，並配合說明書據以解釋本發明之原理。

【實施方式】

本發明提出在混頻的情況中測量交流磁化量的方法與裝置，且提出各種實施例。一些示範實施例用以解釋本發明，然而本發明不以此為限。

考量測量交流磁化量的習知設計，為了進一步減少激磁場與電子電路子諧波對頻率 $\alpha_T f_0$ 輸出電壓的影響，本發明提出使用混頻激發（mixed-frequency excitation）技術及電子電路的補償機制。

為了實施混頻激發，採用超過一個以上的頻率的施加磁場，而實際上至少同時採用具不同頻率的兩個磁場。舉例來說，圖3繪示依照本發明一示範實施例之在施加交流磁場下測量磁性流體之磁化量之架構。圖3示範說明從兩個頻率產生混頻激發的方式。在此情況下，兩個激磁電磁線圈204與206採用共軸配置。兩個激磁電磁線圈204與206分別由驅動單元的交流電流產生器200與202驅動。兩個交流電流產生器200與202分別提供不同頻率 f_1 與 f_2 的電流至兩個激磁電磁線圈204與206。據此，公式(4)中 H 可以改為 H_1+H_2 ，其中， $H_1=H_{10}\cos(2\pi f_1 t)$ 、 $H_2=H_{20}\cos(2\pi f_2 t)$

且 $f_1 \neq f_2$ 。於是公式(4)則為

$$(6) \quad M(\xi \rightarrow 0) = 0.32 M_0 \mu_0 m (H_1 + H_2) / k_B T \\ - 0.12 M_0 (\mu_0 m / k_B T)^3 (H_1 + H_2)^3 + (H_1 + H_2)^5 O^5 (\mu_0 m / k_B T) + \dots$$

公式(6)顯示 M 為具有頻率 αf_1 、 αf_2 與 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 之分量的結合，其中 α 為奇數正整數，而 β 與 γ 為非零整數。檢測電磁線圈 208 與磁性流體 212 可以是如圖 1 的檢測電磁線圈 104 與磁性流體 108。線圈 210 可以由電磁線圈 204、206 與 208 組成。除了頻率 f_1 與 f_2 的奇數子諧波之外，具有 f_1 與 f_2 線性組合的分量與混頻激發下的磁性流體磁化量有關。若是基頻 f_1 與 f_2 為線性獨立，則從線圈 210 輸出信號的混頻分量透過電子電路 214 放大時，這些分量在電子電路 214 中並不受子諧波的影響。更進一步而言，利用適當選擇 f_1 與 f_2 ，目標頻率 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 可遠離如通訊中熱門的頻道或都市電力系統的頻道等等。據此，當磁性流體於混頻激發下之磁化量，其 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 的分量可避免來自於環境的干擾。

$\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 分量的振幅通常遠比 αf_1 與 αf_2 還要弱，其中 $\alpha = 1, 2, 3, \dots, n$ 。因此電子電路 214 須設計以放大 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 分量的信號。然而根據上述，基於電子電路 214 裡運算放大器對於輸入信號有高位準的限制，子諧波分量（如 αf_1 與 αf_2 ）在電子電路放大時造成放大效果不佳。因此，電子電路 214

包含補償機制以消除 αf_1 與 αf_2 的分量。

圖 4 繪示所設計的電子電路之方塊圖。圖 4 的電子電路實際上亦包括觸發交流電流產生器。數位信號處理器 (digital signal processing, DSP) 單元 250 產生具有頻率 f_1 與 f_2 的觸發信號。這些信號為數位形式經透過數位類比轉換器 (digital-to-analog converter, DAC) 252 轉換成類比形式。類比觸發信號 f_1 與 f_2 藉由功率放大器 254, 藉以使得交流電流產生器 200 與 202 提供頻率 f_1 的交流電流至激磁電磁線圈 204, 而頻率 f_2 的交流電流至激磁電磁線圈 206。梯度計型式檢測電磁線圈 208 的輸出信號由頻率 αf_1 、 αf_2 與 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 組合而成。這些分量在電子電路 214 中進行濾波/放大/補償處理, 據以產生在混頻 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 的目標分量, 其中 γ_T 與 β_T 為正整數。一般來說, 選擇不同的 γ_T 與 β_T 以獲得混頻可以獲得不同信號的強度。混頻 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 是一般條件, 而 γ_T 與 β_T 的量為設計上的選擇。

圖 4 繪示依照本發明一示範實施例之用以測量磁性流體之磁化量之電路方塊圖之架構。在圖 4 亦繪示圖 3 的裝置。圖 3 的電子電路 214 包括電路 260, 其中電路 260 包括數位信號處理器單元 250, 放大器 262、270、280, 濾波器 264、272、274、282, 類比數位轉換器 (analog-to-digital converter, ADC) 266、276、284, 數位類比轉換器 268 與 278, 形成至少一個階層用以進行濾波、放大與補償的功能。在本示範例中進行 n 階層的信號處理。實際上 n 可以從 2 至 500。每個濾波/放大/補償部分具有從 1 至 1000

的放大倍率，其中放大倍率為 1 代表不使用放大器。對於每個單元來說，包含一個放大器與一個中心頻率在目標頻率的帶通濾波器。

數位信號處理器單元 250 提供諧波頻率 f_1 與 f_2 ，而此二基頻為每次設計時的選擇。頻率 f_1 與 f_2 透過數位類比轉換器 252 轉換至類比信號，據以通知功率放大器 254 控制交流電流產生器 200 與 202 以產生交流電流。據此，兩個激磁電磁線圈 204 與 206 分別由被不同基頻 f_1 與 f_2 的交流電流驅動。具有磁性流體的檢測電磁線圈 208 感應信號頻譜，其中信號頻譜在頻率 αf_1 、 αf_2 與 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 具有各種共振分量， α 、 γ 與 β 為正整數，其中之一的分量 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 將作為目標頻率被濾取出及放大。

檢測電磁線圈 208 輸出具有 αf_1 、 αf_2 與 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 分量的信號至第 1 階層的放大器 AMP1 262。所有的分量將被放大。然而具有中心頻率的濾波器 1 264 過濾其他信號分量，其中這中心頻率位於目標頻率 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 附近。第一個類比數位轉換器 1A 266 轉換類比信號至數位信號，並傳輸至數位信號處理器單元 250，用以找出 αf_1 與 αf_2 的振幅與相位，特別是鄰近於中心頻率 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 的 αf_1 與 αf_2 。為了補償 αf_1 與 αf_2 分量，數位信號處理器單元 250 產生 αf_1 與 αf_2 相位外的信號，並藉由數位類比轉換器 1B 268 據以消除放大信號中的 αf_1 與 αf_2 分量。第 1 階層的輸出信號，以及數位類比轉換器 1B 268 所輸出 αf_1 與 αf_2 相位外的信號，將輸出至第 2 階層中的放大器 270，其中相位外的信號可例如為反相信

號，據以抑制目標頻率 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 分量外的其他信號分量。據此， $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 的振幅相較於其他分量則會增加。據此 αf_1 與 αf_2 的振幅並不會明顯地放大，且可因為補償過程進而被減少。更進一步而言，電子電路的子諧波效應亦會被抑制。因此第一階層的輸出信號可以保持輸出信號的總強度低於運算放大器的高位準限制，其中這運算放大器為第2階層的放大器 270。利用串聯的濾波/放大/補償單元，目標頻率 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 分量可以大大地放大。全部 αf_1 、 αf_2 與 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 分量的最後輸出信號透過類比數位轉換器 nA 284 導通至數位信號處理器單元 250。在目標頻率 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 之分量的振幅透過數位信號處理器單元 250 被解析且輸出。

於此提出混頻激發以及濾波/放大/補償電路的可實施示範例。此示範實施例將偵測塗佈聚葡萄糖之 Fe_3O_4 磁性流體的水性樣本，並將以圖 7 描述。除了 Fe_3O_4 以外，磁性奈米粒子亦可採用其他例如 MnFe_2O_4 、 CoFe_2O_4 、 Fe_2O_3 等等的材質。其他親水性材質，例如蛋白質 A、蛋白質 G 等等可以替代塗佈於磁性奈米粒子表面的聚葡萄糖。本示範實施例中，磁性流體的磁性奈米粒子之平均直徑為 56 奈米，但不以此為限。一般來說，磁性奈米粒子之平均直徑範圍可從 5 奈米至 500 奈米。頻率 f_1 與 f_2 例如可從 10 赫茲 (Hz) 至 10^6 Hz。對於具有各種濃度的磁性流體，圖 4 的電子電路中的濾波/放大/補償，測量目標頻率 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 的分量之振幅，其中濃度可從 0 至 0.3 每克電磁單位 (emu/g) 或是更高濃度。

圖 5 繪示待測樣本中磁化量與濃度的關係。從 0 至 0.3emu/g 之各種濃度的磁性流體利用圖 3 所示的裝置進行測量。受測量的磁性流體之濃度並不以最高 0.3emu/g 為限。當濃度越高時，磁性流體存在越多的獨立磁性奈米粒子。可預期地，當磁性流體的濃度增加時，在 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 目標分量的磁化量 M_T 也以線性方式增加。

具有圖 4 之電路架構的圖 3 之裝置可以有各種應用，例如利用 IMR 進行生物分子的檢測。根據圖 5 所示之結果，當磁性流體的濃度，也就是液體中獨立磁性奈米粒子的數目減少，則 M_T 會跟著越小。本發明的裝置可精確地測量磁性流體的磁化量，且觀察其變化量。透過這樣的特性可研發檢測液體中生物分子之方法。在這樣方法中，例如抗體的生物探針被塗佈於磁性奈米粒子上。

圖 6 繪示依照本發明一示範實施例之介於塗佈生物探針的磁性奈米粒子與待測量的生物分子之反應機制。據此，磁性奈米粒子具有生物機能且可以與目標生物分子結合。由於結合，部分獨立生物機能磁性奈米粒子變得群聚或更大。在圖 6(a)中，當塗佈抗體的磁性奈米粒子並未與待測之生物分子進行反應，據以檢測出的初始狀態磁化量為 $M_{T,0}$ 。此磁性奈米粒子尺寸小且易於轉動。在圖 6(b)中，然而若是奈米粒子與目標生物分子進行反應，則某些磁性奈米粒子則變得更大或群聚於一個群集。在此情況下，當在磁性流體中之生物機能磁性奈米粒子與目標生物分子結合，則樣本的磁化量 $M_{T,\phi}$ 應當小於初始狀態 $M_{T,0}$ 。這機制

即是免疫磁減量 (immunomagnetic reduction, IMR) 的檢測方式。

將以示範實施例顯示根據生物機能磁性奈米粒子與目標生物的結合以降低 M_T 的效應。圖 7 繪示依照本發明一示範實施例之塗佈生物探針之磁性奈米粒子之結構。圖 7 中，單一的磁性奈米粒子例如為 Fe_3O_4 。磁性奈米粒子塗佈有聚葡萄糖與生物探針（或抗體），本示範實施例採用如多株抗體 H1N2。除了多株抗體 (polyclonal antibody) 之外，生物探針亦可以使用單株抗體 (monoclonal antibody)。H1N2 是豬流感 (swine-influenza) 其中之一的病毒作為本範例欲量測含量之待測生物分子。為了檢測目標生物分子 H1N2，40 微公升 (μl) 的濃度 0.02 emu/g 之磁性試劑（亦即具有 H1N2 抗體生物機能磁性奈米粒子之磁性流體）與 60- μl 的 H1N2 液體樣品混合，其中本示範實施例的樣品濃度為 0.032 HAU (血凝單位) /50- μl 。在混合之後，使用圖 3 與 4 所示的裝置來偵測磁性試劑與 H1N2 混合溶液在時變下的 M_T 值。圖 8 繪示依照本發明一示範實施例之以時間函數的磁化量表示之反應。在圖 8 中，圓點代表在培育之前混合磁性試劑與 H1N2 溶液的磁化量 M_T 。圓點分佈在即時穩態。在培育之前的 M_T 標記為 $M_{T,0}$ 。取時間平均值為收集資料，收集時間可例如為 2 小時。在目標混頻 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 之下， $M_{T,0}$ 測量為 66.18。十字點對應於生物機能磁性奈米粒子黏合於目標生物分子 H1N2 的過程。在室溫如 22°C 中黏合與培育之後， $M_{T,\phi}$ 代表平均

M_T 的資料，其中這資料以方點為代表，且資料是當混合磁性試劑與 H1N2 溶液已經培育且達到另一個穩態時進行檢測而得。十字點代表暫態。如同圖 6 所示，磁化量 $M_{T,\phi}$ 於足夠培育期間後變小。培育時間通常與生物探針的品質與培育溫度有關。培育溫度例如從 18°C 至 45°C，而培育時間例如從 1 分鐘至 5 小時。若是培育溫度增加，則培育時間預期可以減少。對於 $M_{T,\phi}$ 來說，方點的時間平均值約為 64.54。 M_T 大量減低顯示生物機能磁性奈米粒子與生物分子 H1N2 進行複合。更進一步而言，IMR 信號可利用以下公式達到 2.48%

$$(7) \quad \text{IMR}(\%) = (M_{T,o} - M_{T,\phi}) / M_{T,o} \times 100\%。$$

經過幾次的測試，平均值與標準差分別為 2.48% 與 0.09%。這結果確認本發明的推論。

更進一步的研究來說，各種生物分子濃度可用 IMR(%) 測量。圖 9 繪示依照本發明一示範實施例之 IMR(%) 行為對於病毒濃度的反應。在圖 9 中顯示 IMR 與目標生物分子濃度的關係，其中病毒於本示範例中可為 H1N2。當濃度小於 3×10^{-4} HAU/50- μ l 時，IMR 信號接近偵測裝置的雜訊位準。當 H1N2 的濃度高過 3×10^{-4} HAU/50- μ l 時，IMR 信號隨著 H1N2 濃度增加而呈現指數增加，接著在高濃度時達到飽和值。從本發明的圖 9 可得知 IMR 與目標生物分子 H1N2 之濃度 ϕ 的關係，其關係表現將依照 S 形公式如公式

(8) :

$$(8) \quad \text{IMR} (\%) = \frac{A-B}{1+\left(\frac{\phi}{\phi_0}\right)^\rho} + B$$

其中公式(8)的參數 A 對應於檢測的雜訊位準，而 B 代表在高濃度目標生物分子的飽和 IMR 信號。利用圖 9 的資料代入公式(8)，則 A、B、 ϕ_0 與 ρ 分別為 1.06、3.65、0.024 與 0.64。圖 9 的相關係數 R^2 為 0.997。據此以待測生物分子濃度 ϕ 的函數表示 IMR 的測量數量，相當高且可由公式(8)而界定。

公式(8)所展現 IMR- ϕ_0 曲線不僅可以於 H1N2 時顯現，亦可於其他種類的生物分子時顯現。生物分子可包括例如蛋白質、病毒、核酸 (nuclei acid)，甚至是化學品。當然，參數 A、B、 ϕ_0 與 ρ 可隨不同目標生物分子而改變。然而根據本發明研究，對於不同生物分子或化學品透過改變比例 IMR 至 $(\text{IMR}-A)/(B-A)$ ， ϕ 至 ϕ/ϕ_0 ，一通用曲線可將不同樣品的 IMR- ϕ_0 關係表示於公式(8) 的相同曲線上，且更進一步以公式(9)表示：

$$(9) \quad \text{IMR}_{\text{nor}} = (\text{IMR}-A)/(B-A) = \frac{1}{1-\Phi^\rho}, \quad \Phi = \phi/\phi_0$$

在公式(9)中正規化 IMR 標記為 IMR_{nor} ，係為正規化濃度 Φ 的函數且不包含參數 A 、 B 與 ϕ_0 。唯一需要在通用型式下被配適的參數為 ρ 。圖 10 繪示依照本發明一示範實施例之針對生物分子正規化濃度的正規化 IMR_{nor} 的行為。在圖 10 中，一些樣本進行檢測以獲得類似圖 9 的曲線。結果顯示針對檢測各種生物分子的通用曲線。標記於圖 10 之 y 軸的 $IMR_{nor}(\%)$ 是 $(IMR-A)/(B-A)$ 以百分比為單位。列表 1 羅列圖 10 中檢測各種生物分子之參數 A 、 B 、 ϕ_0 與 ρ 。

表 1

生物分子	抗體種類	參數			
		A	B	ϕ_0	ρ
H1N2	多株	1.06	3.65	0.024	0.64
H3N1	多株	0.96	5.34	0.060	0.50
Chloramphenicol (CAP)	單株	0.65	6.26	2.24	0.94
Leuco-malachite green (LMG)	單株	0.75	8.86	1.78	1.01
GST-TRIM33	多株	0.63	3.23	69.46	0.86
GM-CSF	單株	0.81	14.53	0.819	0.77

換句話說，公式(9)可以為描繪各種生物分子的一般曲線。在特殊應用上，圖3與4所示的裝置可以用來針對特殊生物分子偵測樣品的IMR。接著，根據公式(8)或公式(9)以及預先完成的列表可以獲得待測生物分子的濃度 ϕ 。生物探針提供者可根據公式(8)或公式(9)預備參數列表。使得使用者可以簡單地利用量測IMR數量據以檢測生物分子的濃度。檢測裝置可例如為具有線圈的圖3和圖4所示裝置，據以產生混頻交流磁場。然而IMR數量亦可採用其他方式進行測量，並不限於以線圈為基礎。本發明測量IMR並不以圖3和圖4所示裝置為限。

雖然本發明已以示範實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何所屬技術域中具有通常知識者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可根據上述之示範實施例所教導、揭露或暗示的內容作些許之更動與潤飾，故本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【圖式簡單說明】

圖1是於交流磁場下測量磁性流體磁化量的習知架構。

圖2是於交流磁場下測量磁性流體磁化量的另一習知架構。

圖3是依照本發明一示範實施例之於交流磁場下測量磁性流體之磁化量之架構。

圖4是依照本發明一示範實施例之用以測量磁性流體之磁化量之電路方塊圖。

圖 5 是待測樣本中磁化量與濃度的關係。

圖 6 是依照本發明一示範實施例之介於塗佈生物探針的磁性奈米粒子與待測量的生物分子之反應機制。

圖 7 是依照本發明一示範實施例之塗佈生物探針之磁性奈米粒子之結構。

圖 8 是依照本發明一示範實施例之依時間變化之磁化量所表示之反應。

圖 9 是依照本發明一示範實施例之 IMR(%)相對於病毒濃度的行為。

圖 10 繪示依照本發明一示範實施例之正規化 $IMR_{nor}(\%)$ 相對於正規化生物分子濃度的行為。

【主要元件符號說明】

100、200、202：交流電流產生器

102、104、120、204、206、208：電磁線圈

108、212：磁性流體

110、214：電子電路

106、210：線圈

254：功率放大器

250：數位信號處理器單元

260：電路

266、276、284：類比數位轉換器

252、268、278：數位類比轉換器

262、270、280：放大器

264、272、274、282：濾波器

102年3月28日修正本

公告本

七、申請專利範圍：

1. 一種用以測量混頻交流磁化量的裝置，包括：

一交流產生單元，用以產生至少一第一交流電流與一第二交流電流，其中該第一交流電流具有一頻率 f_1 ，該第二交流電流具有一頻率 f_2 ；

一共軸電磁線圈單元，該第一交流電流與該第二交流電流驅動該共軸電磁線圈單元以產生一第一磁場與一第二磁場；

一檢測電磁線圈，配置於該共軸電磁線圈單元內，其中一樣本被配置於該檢測電磁線圈用以偵測該樣本之一交流磁化量與多個頻率分量信號，以及輸出多個頻率分量信號，其對應於該頻率 f_1 與該頻率 f_2 之多種組合；以及

一信號處理電路，用以接收該些頻率分量信號，其中該信號處理電路處理該些頻率分量信號，且於 $\gamma_T f_1 + \beta_T f_2$ 之一目標頻率獲得該樣本的該交流磁化量，其中 γ_T 與 β_T 為正整數，且該頻率 f_1 與該頻率 f_2 為不同頻率，

其中該信號處理電路包括：

一數位信號處理器；

多個放大器與多個濾波器串聯的 n 階層，其中 n 至少為 2，一第一放大器耦接至檢測電磁線圈以接收該些頻率分量信號且該些濾波器過濾出具有該目標頻率之一分量；

多個類比數位轉換器，分別耦接於該些濾波器與該數位信號處理器之間，該些類比數位轉換器針對該數位信號處理器據以轉換該些濾波器之多個輸出信號為數位形式；

以及

多個數位類比轉換器，分別從該數位信號處理器耦接至該些放大器，其中該數位信號處理器產生一抑制信號且該抑制信號回饋至耦接的該些放大器，據以抑制前一階層濾波器的輸出訊號在該目標頻率以外的部分。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之用以測量混頻交流磁化量的裝置，其中該頻率 f_1 與該頻率 f_2 於一範圍從 10 赫茲至 10^6 赫茲。

3. 如申請專利範圍第 1 項所述之用以測量混頻交流磁化量的裝置，其中該檢測電磁線圈包括一磁量計或一梯度計型式。

4. 如申請專利範圍第 1 項所述之用以測量混頻交流磁化量的裝置，其中該檢測電磁線圈共軸配置於該共軸電磁線圈單元。

5. 如申請專利範圍第 1 項所述之裝置，其中該些濾波器之一中央頻率位於一混頻中的該目標頻率。

6. 如申請專利範圍第 1 項所述之裝置，其中從該數位信號處理器產生的該抑制信號是用以消除除目標頻率外的多個信號與多個子諧波頻率，其中該些信號是由該共軸電磁線圈單元產生的多個諧振頻率，該些子諧波頻率是由電子電路所感應出的。

7. 一種用以建立一交流磁化量減量與一生物分子濃度之一關係的方法，其中該交流磁化量減量為一待測樣本添加一已知濃度的生物分子且經培育之前與之後所測量之

多個交流磁化率之一差值，該方法包括：

預備多個樣本，其中每個樣本包括具有多個磁性奈米粒子與一生物分子濃度之一溶液，其中多個生物探針分子塗佈於該些磁性奈米粒子，每個樣本具有不同的該生物分子濃度；

針對每個樣本測量一交流磁化量減量；

以一 S 形公式配適該些交流磁化量減量之資料，該 S 形公式是

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

，其中 IMR 為該交流磁化量減量之

百分比， ϕ 為每個樣本中該生物分子濃度，且 A、B、 ϕ_0 與 ρ 為多個配適參數用以配適該 S 形公式據以獲得一已配適曲線；以及

根據該 S 形公式之該已配適曲線，針對一待測樣本測量一交流磁化量減量 IMR 以獲得一目標生物分子濃度。

8. 如申請專利範圍第 7 項所述之用以建立一交流磁化量減量與一生物分子濃度之一關係的方法，其中測量該交流磁化量減量 IMR 的步驟包括：

依時間函數，施加具有一混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 之一交流磁場，其中 γ 與 β 為各自獨立且大於 0 的整數， f_1 與 f_2 為該交流磁場中的兩個基頻；

針對該交流磁化量於一時間軸上之一分佈決定一初始區域與一完全反應區域；以及

估算該些交流磁化率的該差值，其中該些交流磁化率

位於該初始區域與該完全反應區域。

9. 如申請專利範圍第 8 項所述之用以建立一交流磁化量減量與一生物分子濃度之一關係的方法，其中具有該混頻 $\gamma f_1 + \beta f_2$ 之該交流磁場為利用驅動共軸配置之一第一與一第二電磁線圈而得，其中該第一電磁線圈具有基頻 f_1 而該第二電磁線圈具有基頻 f_2 。

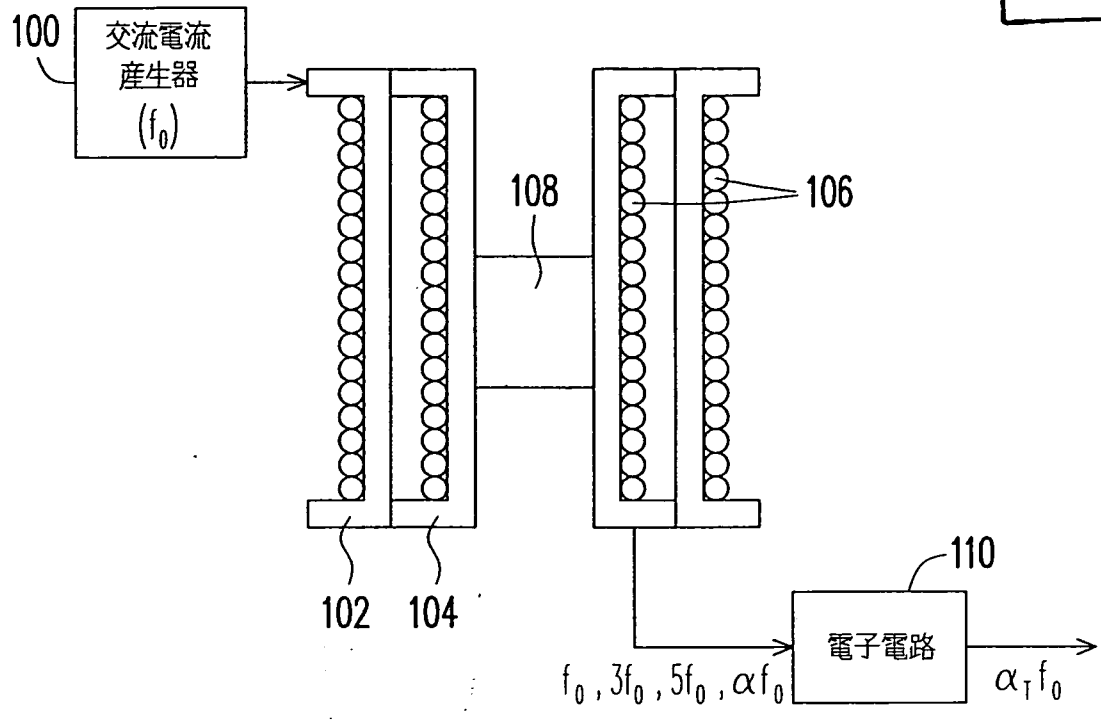


圖 1

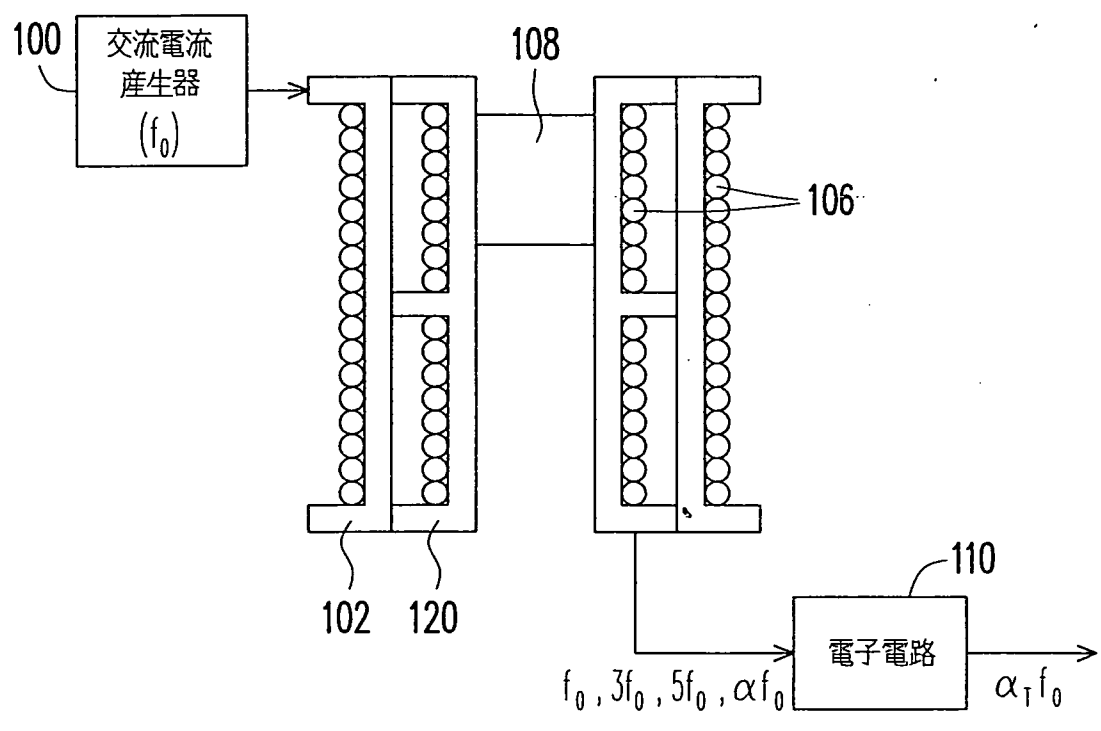


圖 2

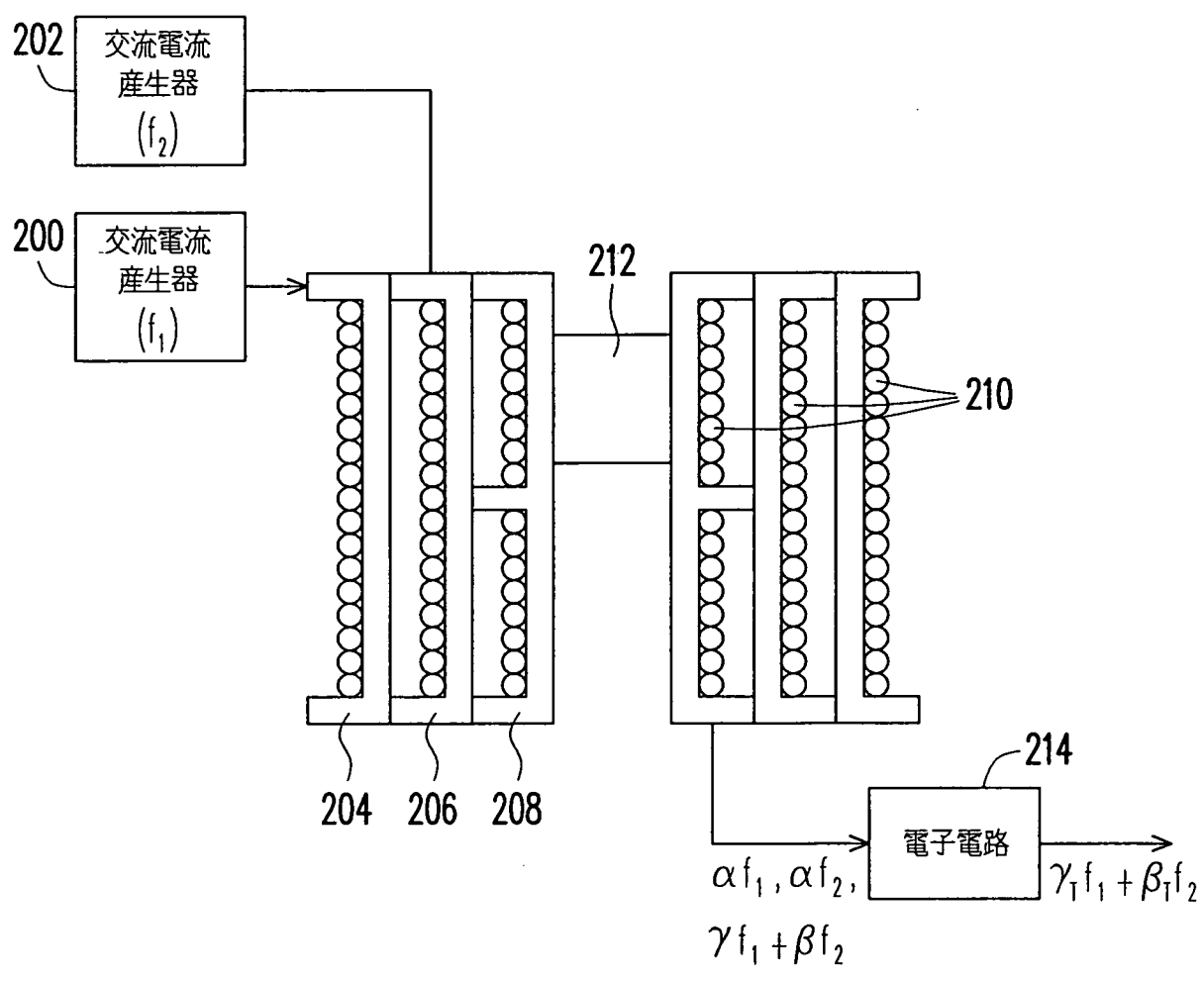


圖 3

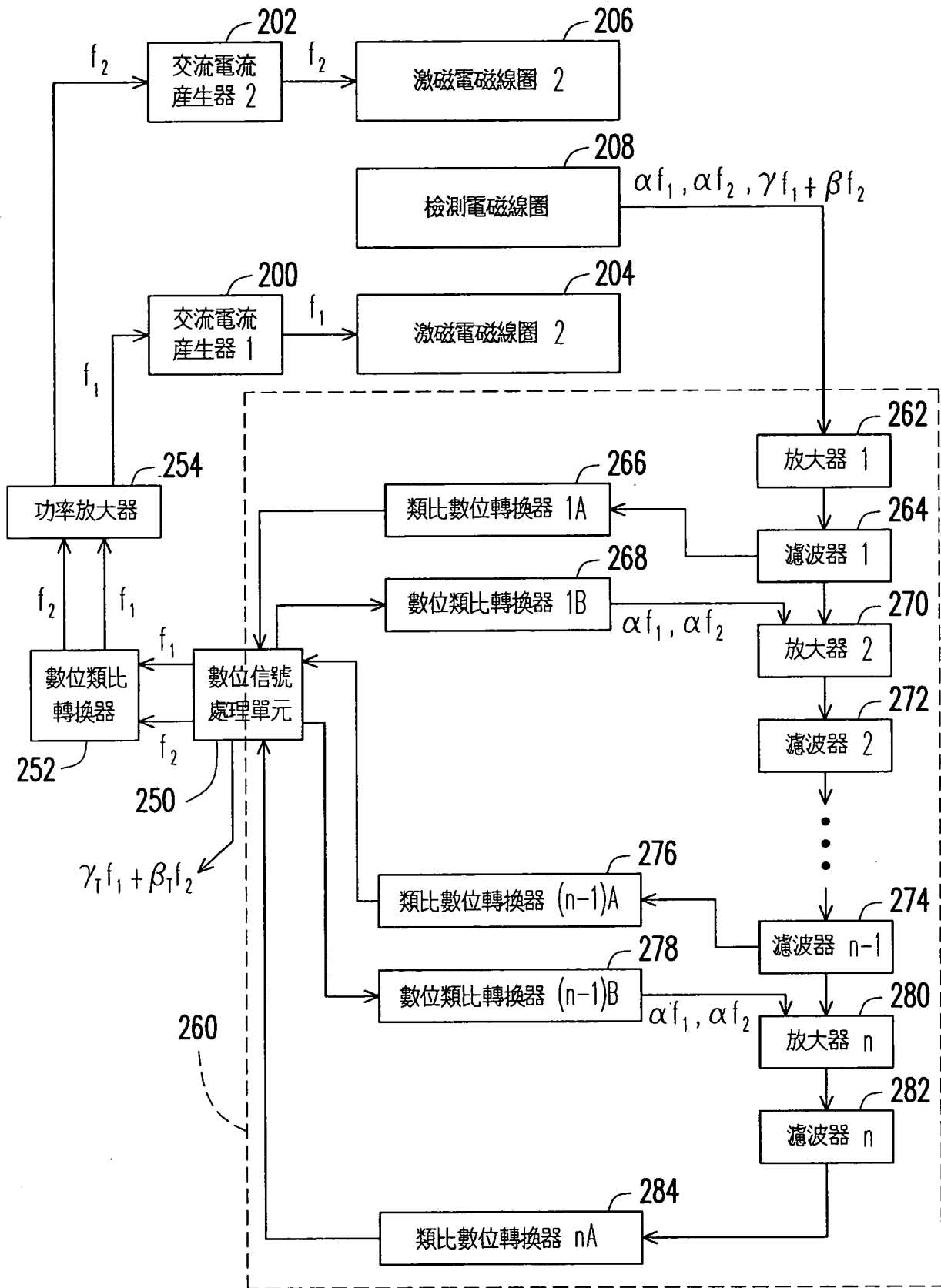


圖 4

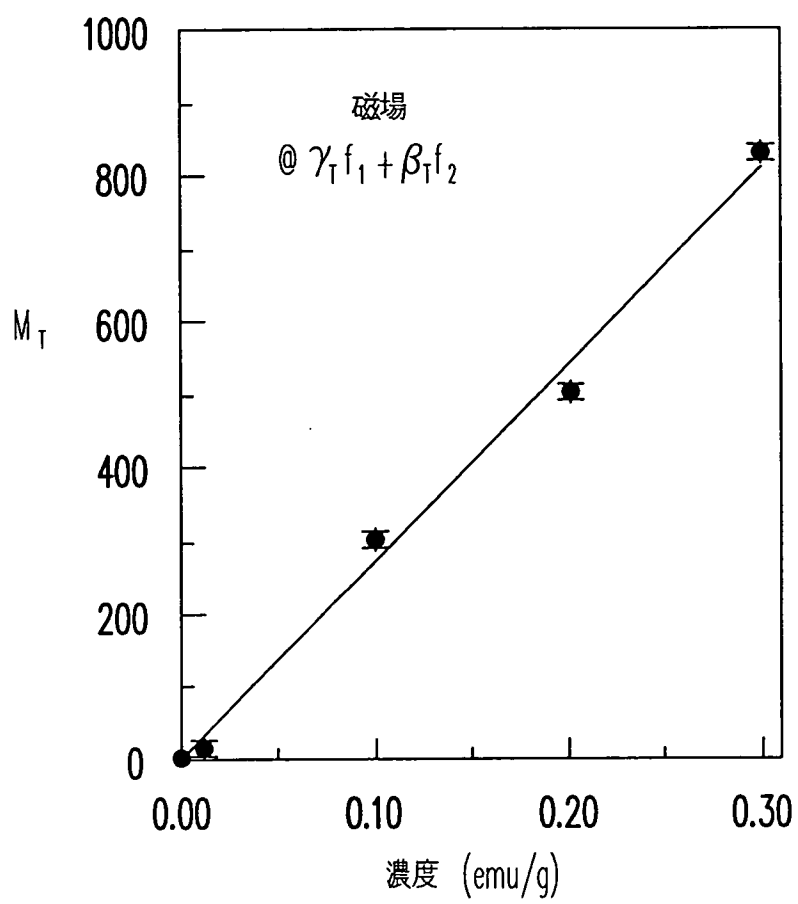


圖 5

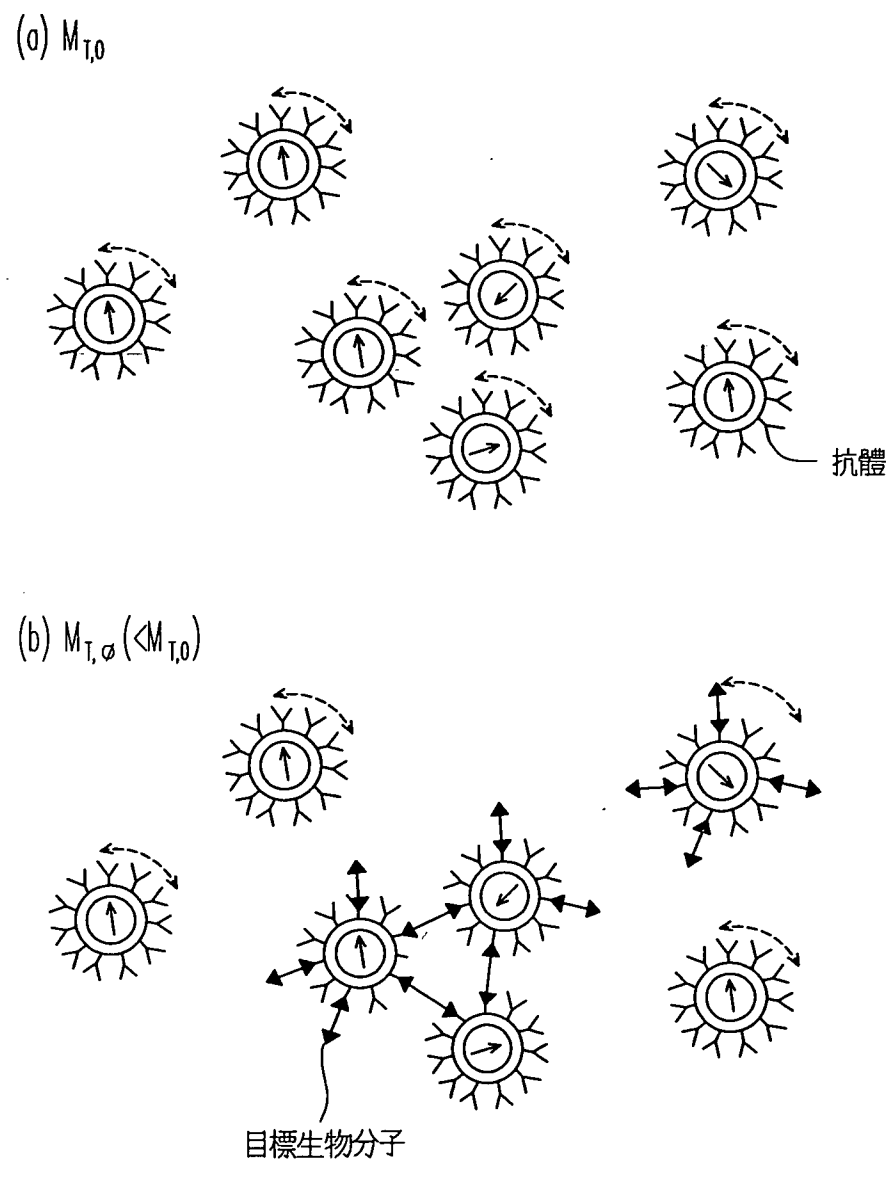


圖 6

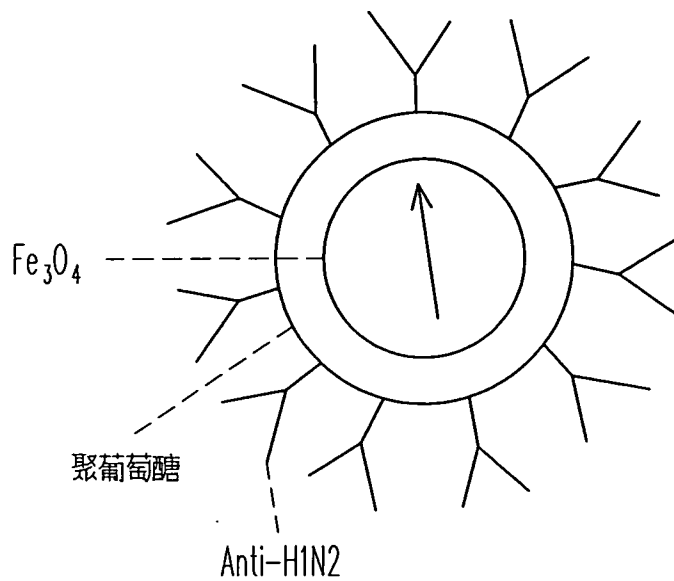


圖 7

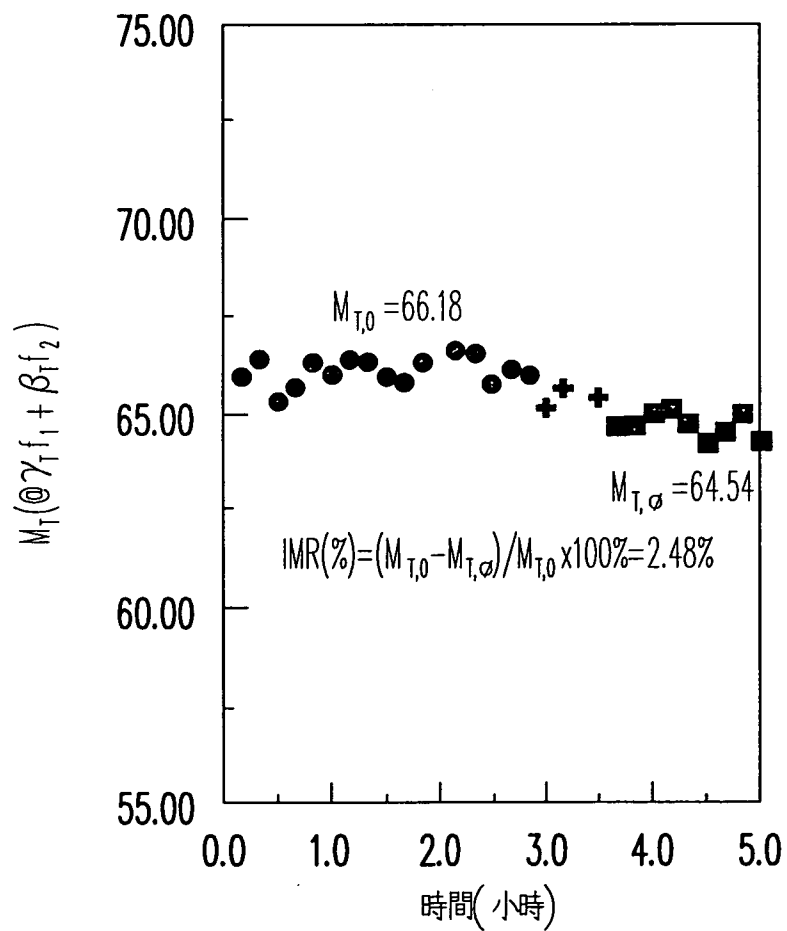


圖 8

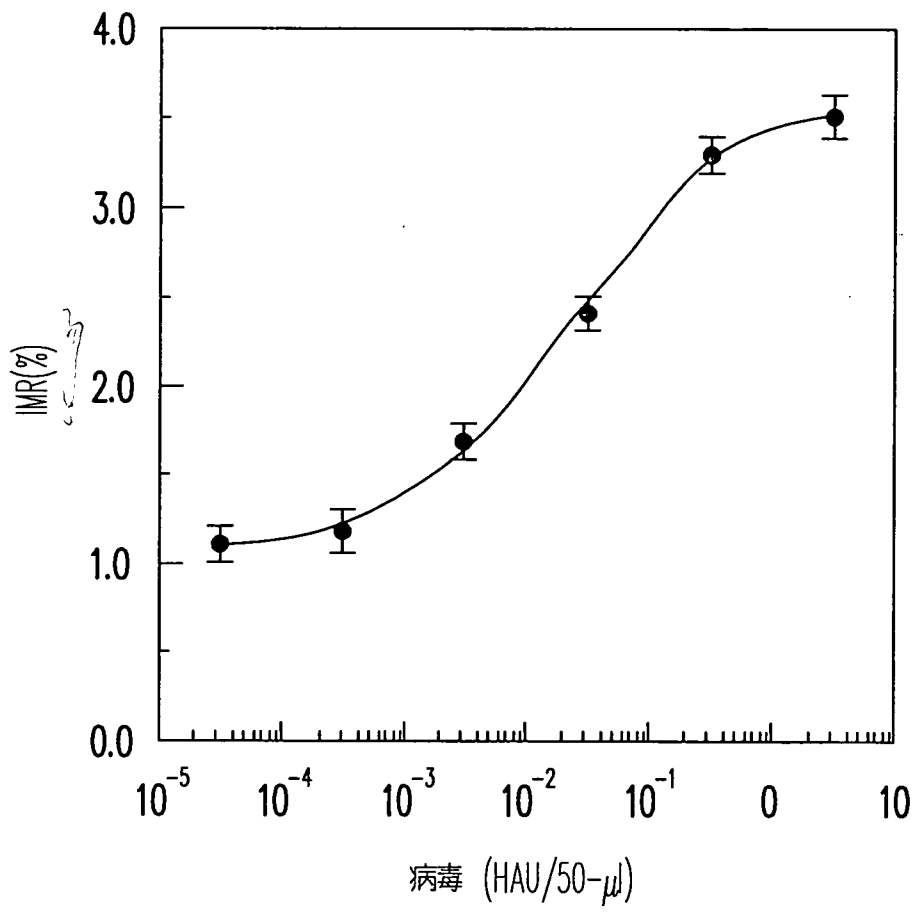


圖 9

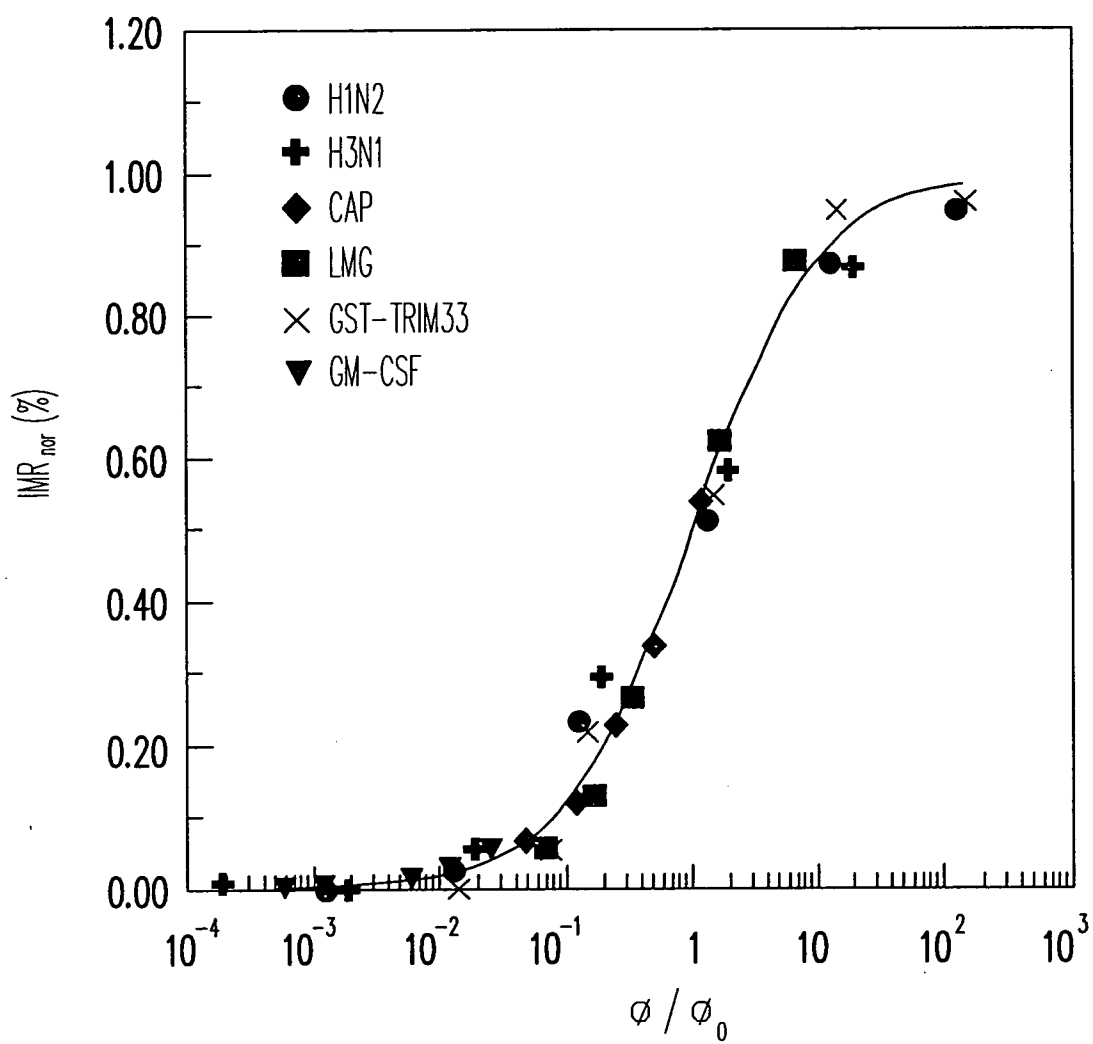


圖 10