



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I499554 B

(45) 公告日：中華民國 104 (2015) 年 09 月 11 日

(21) 申請案號：102140058

(22) 申請日：中華民國 102 (2013) 年 11 月 05 日

(51) Int. Cl. : **B82Y15/00 (2011.01)****B82Y5/00 (2011.01)****G01N33/53 (2006.01)**

(71) 申請人：國立交通大學 (中華民國) NATIONAL CHIAO TUNG UNIVERSITY (TW)

新竹市大學路 1001 號

(72) 發明人：劉典謨 LIU, DEAN MO (TW)；簡仁德 JEAN, REN DER (TW)；周昊勳 CHOU, HAO SYUN (TW)；蕭孟軒 HSIAO, MENG HSUAN (TW)；鄭暉達 CHENG, WEI DA (TW)

(74) 代理人：林火泉

(56) 參考文獻：

TW 201341300A

JP 2013-64979A

審查人員：林佑霖

申請專利範圍項數：16 項 圖式數：3 共 23 頁

(54) 名稱

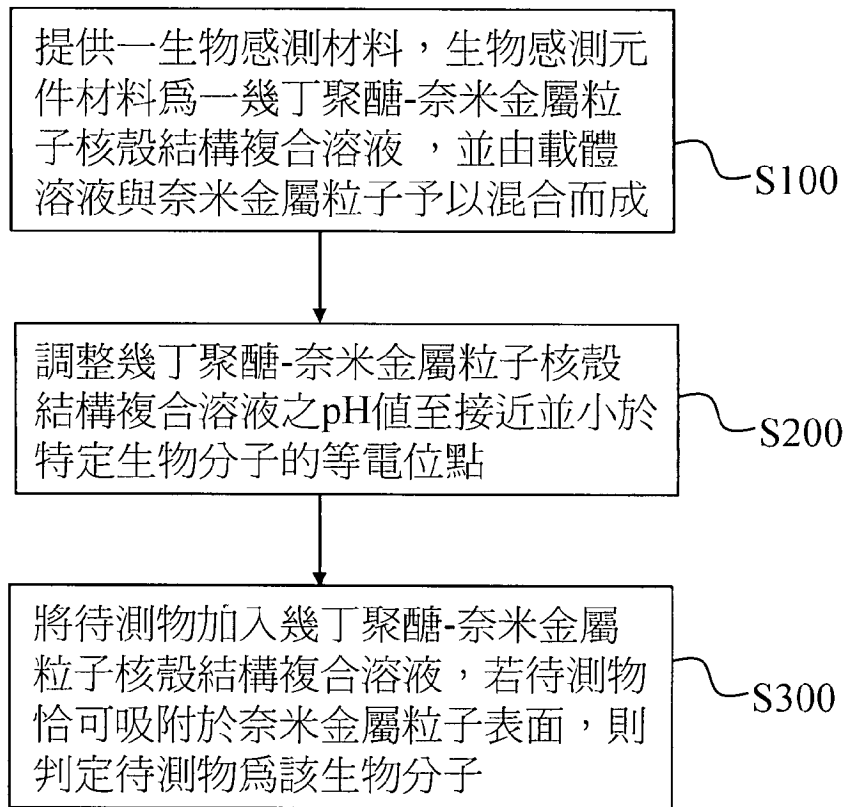
具高度選擇性的生物感測材料及方法

MATERIALS AND METHOD FOR SENSING BIOMOLECULES WITH HIGH SELECTIVITY

(57) 摘要

一種具高度選擇性的生物感測材料及方法，乃將奈米金屬粒子和幾丁聚醣高分子混合於水溶液中，以形成幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液，此幾丁聚醣高分子自組裝形成核殼結構作為載體，以供奈米金屬粒子可藉由靜電吸附並均勻分散於核殼結構表面，有效避免奈米金屬粒子的沉澱與團聚。本發明更利用操控幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液的 pH 值，使幾丁聚醣核殼結構及待測物的表面電性產生變化，當 pH 值稍微小於待偵測生物分子的等電位點，則奈米金屬粒子可與此生物分子有最佳的靜電吸附效果，進而達成具有高度選擇性及高度靈敏性的感測功能。

A materials and method for sensing biomolecules with high selectivity are provided. The nano-metal particles and chitosan polymer are mixed in an aqueous solution to form a nano-metal particles - chitosan complex solution. The chitosan molecular is self-assembled to form a core-shell structure as a carrier for the nano-metal particles. The nano-metal particles may be uniformly dispersed in the surface of the core-shell structure by electrostatic attraction forces to prevent precipitation and reunion. The present invention further controls the pH value of the nano-metal particles - chitosan composite solution to make the surface charge of the chitosan core-shell structure and the analyte be changed. When the pH value is slightly less than the isoelectric point of the specific biological molecules, the nano-metal particles have the best electrostatic adsorption effect for this biological molecules with high selectivity and high sensitivity.



第1圖

發明摘要

※ 申請案號：102140058

B82Y 15/00 (2011.01)

※ 申請日：102.11.05

※IPC 分類：

B82Y 5/00 (2011.01)

G01N 33/53 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

具高度選擇性的生物感測材料及方法 / MATERIALS AND METHOD FOR SENSING BIOMOLECULES WITH HIGH SELECTIVITY

【中文】

一種具高度選擇性的生物感測材料及方法，乃將奈米金屬粒子和幾丁聚醣高分子混合於水溶液中，以形成幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液，此幾丁聚醣高分子自組裝形成核殼結構作為載體，以供奈米金屬粒子可藉由靜電吸附並均勻分散於核殼結構表面，有效避免奈米金屬粒子的沉澱與團聚。本發明更利用操控幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液的pH值，使幾丁聚醣核殼結構及待測物的表面電性產生變化，當pH值稍微小於待偵測生物分子的等電位點，則奈米金屬粒子可與此生物分子有最佳的靜電吸附效果，進而達成具有高度選擇性及高度靈敏性的感測功能。

【英文】

A materials and method for sensing biomolecules with high selectivity are provided. The nano-metal particles and chitosan polymer are mixed in an aqueous solution to form a nano-metal particles - chitosan complex solution. The chitosan molecular is self-assembled to form a core-shell structure as a carrier for the nano-metal particles. The nano-metal particles may be uniformly dispersed in the surface of the core-shell structure by electrostatic attraction

forces to prevent precipitation and reunion. The present invention further controls the pH value of the nano-metal particles - chitosan composite solution to make the surface charge of the chitosan core-shell structure and the analyte be changed. When the pH value is slightly less than the isoelectric point of the specific biological molecules, the nano-metal particles have the best electrostatic adsorption effect for this biological molecules with high selectivity and high sensitivity.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

具高度選擇性的生物感測材料及方法 / MATERIALS AND METHOD FOR SENSING BIOMOLECULES WITH HIGH SELECTIVITY

【技術領域】

【0001】 本發明係有關一種感測元件，特別是指一種具高度選擇性的生物感測材料及方法。

【先前技術】

【0002】 傳統的感測技術必須利用佈值特定的分子化合物在奈米金屬粒子表面，透過此一特定分子化合物與待測物間的選擇結合，而不與其他物質結合，藉此，可以達到對待測物的專一選擇性，避免產生感測干擾。然而，一般此一特定分子化合物與奈米金屬粒子的接合並不容易，其接合率可能不容易控制，一方面由於製程複雜可能造成感測元件成本的提高，另一方面也因接合率的控制不易，可能產生感測元件訊號的不穩定。因此，如何找出一種有別於傳統技術並具有感測選擇性的感測方法，將是相當重要的課題。

【0003】 另外，許多奈米金屬粒子具有優異的表面電漿共振 (Surface plasmon resonance ; SPR) 特性，且具有高表面積，因此被廣泛應用在生物感測領域作為感測材料。但奈米金屬粒子本質容易團聚，將造成可能喪失奈米粒子的獨特特性，因此，通常必須在奈米金屬粒子表面被覆界面活性劑 (surfactants)，藉以提高奈米金屬粒子的分散性，來避免團聚及沉降的現象發生，但是，界面活性劑可能造成奈米金屬粒子原本具有的優異感測特

性的不利影響。

【0004】 感測元件的訊號強度與靈敏度係和待測物及感測材料的接觸息息相關，一般而言，訊號的強度與待測物接觸感測材料的數量成正比，與二者接觸距離成反比，故在設計上須極大化感測材料的表面積及避免在感測材料上被覆其他物質。由此可見，待測物與奈米金屬粒子（例如奈米金）的間距將會對表面電漿共振訊號造成很大的影響，可能會降低感測元件的可偵測下限（low detection limit），降低感測靈敏度；另一方面，奈米金屬粒子的聚集，使得奈米金屬粒子的表面積減少，也會造成感測靈敏度的下降。

【發明內容】

【0005】 鑑於以上的問題，本發明的主要目的在於提供一種具高度選擇性的生物感測材料及方法，利用操控測試環境pH值稍微小於待測生物分子的等電位點，則生物分子將帶有微弱正電荷，將可被吸附在帶負電荷的奈米金屬粒子表面，此一利用特別的靜電吸附特性，可以形成與待測生物分子有最佳的靜電吸附效果，從而達到具有專一選擇性的能力。

【0006】 本發明的另一目的在於提供一種具高度選擇性的生物感測材料及方法，是以奈米金屬粒子作為感測訊號的介質，並以幾丁聚醣高分子（carboxymethyl hexanoyl chitosan；CHC）自組裝形成的核殼結構作為載體，藉以取代在奈米金屬粒子上的界面活性劑，而能維持奈米金屬粒子的分散性，並增加奈米金屬粒子的感測靈敏度。

【0007】 為達上述之目的，本發明提供一種具高度選擇性的生物感測材料，是由載體溶液和複數金屬奈米粒子混合形成為一幾丁聚醣-奈米金屬

粒子核殼結構複合溶液，其中載體溶液是由幾丁聚醣高分子自組裝形成核殼結構於其中之水溶液，金屬奈米粒子則混合於載體溶液中，並藉由靜電作用力吸附及分散於核殼結構的表面，由於幾丁聚醣高分子的水溶性良好，能避免奈米金屬粒子的沉澱與團聚，提高其感測靈敏度。並且，此幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值設定為接近且小於特定生物分子的等電位點，將使受偵測之生物分子帶有微弱正電荷，而可與帶負電荷的奈米金屬粒子有最佳的靜電吸附效果，因而奈米金屬粒子對於此生物分子將具有專一選擇性吸附的能力。

【0008】 同時，本發明也提供一種具高度選擇性的生物感測方法，其步驟是使用生物感測材料來進行感測，此生物感測元件材料為一幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液，並由載體溶液與複數奈米金屬粒子予以混合而成，載體溶液為幾丁聚醣高分子自組裝形成核殼結構於其中之水溶液，且奈米金屬粒子是藉由靜電作用力吸附並分散於核殼結構表面，然後，藉由調整幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值至接近並小於特定生物分子的等電位點，而讓奈米金屬粒子對於此生物分子具有專一選擇性吸附能力，之後，則將一個或多個待測物加入幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液中，若待測物恰可吸附於奈米金屬粒子表面，則判定此待測物即為該特定生物分子，反之，則判定待測物並非該特定生物分子。

【0009】 底下藉由具體實施例詳加說明，當更容易瞭解本發明之目的、技術內容、特點及其所達成之功效。

【圖式簡單說明】

【0010】

第1圖，為本發明所提供之具高度選擇性的生物感測材料及方法之流程圖。

第2圖，為本發明所提供之具高度選擇性的生物感測材料之結構示意圖。

第3A~3D圖，分別為本發明之實施例將AuNR-CHC複合溶液調整為不同pH值(pH4、pH5、pH6、pH9)的情況下，以人血清白蛋白(Human serum albumin; HSA)和從雞蛋清提取的溶菌酶(Lysozyme)為待測物來進行感測之示意圖。

【實施方式】

【0011】 請參照第1圖，顯示本發具高度選擇性的生物感測方法的流程圖。以下針對本發明之各個步驟進行詳細描述：

【0012】 首先，如步驟S100，提供一生物感測材料，此生物感測材料為一幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液，由幾丁聚醣高分子自組裝(self assembly)形成核殼(core-shell)結構10於水溶液所形成的載體溶液中，將奈米金屬粒子20予以混合，使奈米金屬粒子20得以藉由靜電作用力吸附在幾丁聚醣核殼結構10表面，藉此，可避免奈米金屬粒子20在沒有界面活性劑條件下的沉澱與團聚，又因為幾丁聚醣高分子具有很好的水溶性，能輕易均勻溶解分散於水中，將有助於奈米金屬粒子20得以在幾丁聚醣核殼結構10表面保持長時間的分散性，其結構如第2圖所示。

【0013】 然後，如步驟S200，將幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值調整為接近但小於特定生物分子的等電位點(Isoelectric point; IEP)，而讓奈米金屬粒子對於此生物分子具有專一選擇性吸附能力。

【0014】 最後，如步驟S300，將一個或多個待測物加入幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液中，若待測物呈現帶有微弱正電荷，將恰可吸附於奈米金屬粒子表面，則可判定此待測物即為該特定生物分子，反之，無法予以吸附的待測物則可判定為並非該特定生物分子。

【0015】 因此，本發明乃特別適合應用於同時存在多種感測物之感測，藉由簡單的調整幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值，來製得對於某特定生物分子具有專一選擇性吸附能力之生物感測材料，並可藉由待測物是否可吸附於生物感測材料之奈米金屬粒子表面，來判定及選擇生物分子。

【0016】 本發明生物感測材料的組成中，幾丁聚醣高分子可為經雙性改質之幾丁聚醣高分子，奈米金屬粒子之材質可為金、銀或鉑，且奈米金屬粒子可為球體、棒狀、或其他形狀。而生物感測材料可感測的生物分子包含人血清白蛋白（human serum albumin, HSA）或溶菌酶（Lysozyme）等蛋白質，亦可為三聚氰胺或咖啡因等其他物質。

【0017】 在此，以雙性幾丁聚醣與金奈米粒子的組成為實施例，簡單說明本發明如何製作幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構（CHC-AuNR）複合溶液之生物感測材料，其製作流程包含下列步驟：

【0018】 （1）金奈米粒子（AuNRs）的合成：本實施例是利用種晶促進長成法（seed-mediated growth）來製備金奈米粒子。首先，利用硼氫化鈉（ NaBH_4 ）（0.6 mL, 0.1 M）為還原劑，在三甲基溴化銨（cetyl trimethylammonium bromide, CTAB）（5 mL, 0.2 M）的存在與攪拌條件下，將四氯金酸（ HAuCl_4 ）（5 mL, 5×10^{-4} M）還原。經過1.5小時後，當溶液

的顏色逐漸變成棕黃色後，即反應完成而製得金種晶溶液。此棕黃色溶液將用於合成金奈米粒子。金奈米粒子合成過程，是先取2.5 mL, 0.01 M的四氯金酸、47.5 mL, 0.1 M的CTAB和0.6 mL, 0.01 M的硝酸銀水溶液混合。緩慢混合溶液，並逐漸加入0.275 mL, 0.1 M的L-抗壞血酸 (L-ascorbic acid, LAA)，在35°C的溫度下在不斷攪拌，然後將0.06 mL的金種晶溶液加到該混合物中，當溶液顏色改變時，即形成金奈米粒子。這些金奈米粒子需在攪拌條件下老化24小時，再通過離心分離方式，除去過量的CTAB。

【0019】 (2) 幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構 (CHC-AuNR) 複合溶液的合成：首先，將0.8 mL去離子水加入0.2 mL已製備好的金奈米粒子溶液中，並在7000 rpm的轉速下離心15分鐘。之後，加入0.1 mL雙性幾丁聚醣 (CHC) 溶液，並使用0.9 mL乙醇，除去金奈米粒子表面的CTAB。然後，在12000 rpm的轉速下離心分離20分鐘，除去溶液中的乙醇上清液。於是，形成凝膠狀的幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構奈米粒子，然後加入1 mL去離子水 (DI water)，使凝膠狀的幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構奈米粒子再次分散 (re-disperse)，以形成分散良好的懸浮溶液，即為本發明作為生物感測材料之CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液。最後，將得到的CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液一次取0.5 mL，再用0.5 mL的各種緩衝溶液予以混合，來獲得不同pH值之CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液，並利用紫外光-可見光 (UV-Vis) 光譜儀監測之。

【0020】 其中，緩衝溶液係可選用檸檬酸與檸檬酸鈉混合溶液、乙酸與乙酸钠混合溶液、醋酸與醋酸鈉混合溶液、或檸檬酸、磷酸氫鉀、硼酸與二乙基巴比妥酸混合溶液；使用緩衝溶液可用以減緩CHC-AuNR奈米核

殼結構複合溶液pH值的劇烈變化。

【0021】 接著，再針對本發明具高度選擇性的生物感測材料及方法的使用原理詳加說明。請參照第3A～3D圖，分別顯示本發明之實施例將CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液調整為不同pH值(pH4、pH5、pH6、pH9)的情況下，以人血清白蛋白(HSA)和從雞蛋清提取的溶菌酶(Lysozyme)為待測物來進行感測。

【0022】 如第3A圖所示，AuNR-CHC複合溶液之pH值為4時，雙性幾丁聚醣-金奈米粒子核殼結構(CHC-AuNR)奈米粒子表面帶正電荷，待測物HSA的表面帶正電荷，待測物Lysozyme的表面也帶正電荷，故，基於庫侖定律之同性電荷相斥的原理，待測物HSA和Lysozyme皆無法吸附於AuNR-CHC奈米粒子。

【0023】 如第3B圖所示，CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液之pH值為5時，此pH值接近但小於待測物HSA的等電位點(5.3)，CHC-AuNR奈米粒子表面接近電中性，其中CHC表面帶正電荷，AuNR表面帶負電荷，待測物HSA的表面帶微弱正電荷，待測物Lysozyme的表面帶正電荷，故，基於庫侖定律之同性電荷相斥及異性電荷相吸的原理，CHC會和待測物Lysozyme相斥，AuNR無法吸附待測物Lysozyme，而是容易吸引待測物HSA吸附於AuNR表面。

【0024】 如第3C圖所示，CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液之pH值為6時，CHC-AuNR奈米粒子表面轉為帶負電荷，待測物HSA的表面帶負電荷，待測物Lysozyme的表面帶正電荷，故，基於庫侖定律之同性電荷相斥的原理，待測物HSA無法吸附於AuNR表面，而且，CHC也會和待測物

Lysozyme相斥，AuNR無法吸附待測物Lysozyme。

【0025】 如第3D圖所示，CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液之pH值為9時，此pH值接近但小於待測物Lysozyme的等電位點(10.1)，CHC-AuNR奈米粒子表面帶負電荷，待測物HSA的表面帶負電荷，待測物Lysozyme的表面帶微弱正電荷，故，基於庫侖定律之同性電荷相斥及異性電荷相吸的原理，待測物HSA無法附著於AuNR表面，但AuNR可以很輕易地吸引待測物Lysozyme而附著於表面上。

【0026】 由上述說明可以理解，當CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液pH值為比待測物的等電位點稍微小的pH值時，對於待測物將呈現最佳的感測靈敏度。因此，本發明生物感測材料利用對於載體溶液pH值的操控，的確可使奈米金屬粒子對於特定生物分子具有專一選擇性吸附能力，而不需如傳統方法利用接合分子化合物的方式方能達到感測選擇性的目的。

【0027】 底下更利用數個實施例的實驗結果，來輔助說明本發明可達到對於特定生物分子的感測具有高選擇性及高靈敏性。

【0028】 (一) 以HSA感測為例，在不同pH值的CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液下測試其紫外光-可見光(UV-Vis)特性，如表一所示，可以很清楚的觀察到在HSA的等電位點(等電位點為5.3)附近的pH值(pH 5)呈現較靈敏的峰值位移(peak shift)。因此，可以利用pH值的操控來達到感測靈敏度，並藉由各種生物分子可能具有的等電位點特性來達到選擇性的效果。

【0029】 表一

HAS	pH4	pH5	pH6	pH8	pH9	pH10
-----	-----	-----	-----	-----	-----	------

濃度	峰值位移 (nm)	峰值位移 (nm)	峰值位移 (nm)	峰值位移 (nm)	峰值位移 (nm)	峰值位移 (nm)
1 ng/cm ³	2.93±0.33	1.81±0.69	0.73±0.42	0.75±1.20	0.27±0.89	0.63±1.06
10 ng/cm ³	2.95±0.81	3.52±0.20	0.75±0.43	-1.07±1.43	0.33±1.04	0.62±0.80
100 ng/cm ³	3.24±1.06	4.32±0.59	0.75±0.43	-1.9±1.89	-0.20±0.72	0.17±0.70
1 μg/cm ³	3.78±0.66	4.47±0.74	0.45±0.29	-3.28±2.14	-0.03±1.2	-0.55±1.10
10 μg/cm ³	4.35±1.05	8.30±0.90	1.7±0.98	-1.15±1.32	-1.3±1.54	-3.72±1.94
100 μg/cm ³	6.00±1.77	13.85±0.39	3.2±0.74	-1.72±0.8	-3.65±0.57	-11.23±0.87

【0030】 (二) 以Lysozyme感測為例，在不同pH值的CHC-AuNR奈米核殼結構複合溶液下測試其紫外光-可見光(UV-Vis)特性，如表二所示，可以很清楚的觀察到在Lysozyme的等電位點(等電位點為10.1)附近的pH值(pH 9)呈現較靈敏的峰值位移(peak shift)。因此，可以利用pH值的操控來達到感測靈敏度，並藉由各種生物分子可能具有的等電位點特性來達到選擇性的效果。

【0031】 表二

Lysozyme 濃度	pH4 峰值位移 (nm)	pH5 峰值位移 (nm)	pH6 峰值位移 (nm)	pH8 峰值位移 (nm)	pH9 峰值位移 (nm)	pH10 峰值位移 (nm)
1 ng/cm ³	-0.07±0.45	1.78±1.00	1.48±0.80	-0.13±0.14	0.47±0.27	-0.68±0.62
10 ng/cm ³	-0.93±0.76	2.78±0.19	1.28±1.60	-0.72±0.70	1.12±0.4	-1.12±0.88
100 ng/cm ³	-0.4±0.14	3.43±0.29	1.98±1.70	0.12±0.68	2.12±0.61	-1.58±1.17
1 μg/cm ³	-0.42±0.05	3.65±0.71	2.07±1.08	0.98±0.21	4.28±2.62	-1.3±1.83
10 μg/cm ³	-0.52±0.55	3.27±0.54	1.92±1.52	3.2±0.94	10.23±0.91	1.67±2.19
100 μg/cm ³	0.38±0.59	15.06±2.80	4.55±0.83	13.5±1.50	35.2±8.03	19.05±2.93

【0032】 (三) 另一方面而言，一般的金奈米粒子，為了維持其分散性，

一般都需被覆一層界面活性劑，但表面被覆將影響金奈米粒子的表面電漿共振 (SPR)，因此其靈敏度將會受到影響。本發明實施例所使用的 CHC-AuNR 奈米核殼結構複合溶液，乃將金奈米粒子的表面被覆以酒精清洗後，以 CHC 水溶液為載體溶液，提供金奈米粒子予以吸附並避免金奈米粒子的聚集，在 HSA 感測的特性上，利用傳統的 UV-Vis 光譜儀測試，其可偵測下限 (low detection limit) 上有很大的提升，如表三所示。相較被覆 CTAB 的金奈米粒子，即使在 HSA 濃度達 $100 \mu\text{g}/\text{c.c.}$ ，UV-Vis 光譜的峰值位移仍然無規律性，但在 CHC-AuNR 奈米核殼結構複合溶液中，HSA 濃度在大於 $10\text{ng}/\text{c.c.}$ 峰值位移即呈現穩定增加的特性，即其可偵測下限有顯著降低，顯示其感測靈敏度 (sensitivity) 大幅被提升。

【0033】 表三

HSA 濃度	AuNR-CTAB 峰值位移(nm)	無 CTAB AuNR-CHC 峰值位移(nm)
$1\text{ng}/\text{cm}^3$	-0.2	-0.4
$10\text{ng}/\text{cm}^3$	-0.33	0.6
$100\text{ng}/\text{cm}^3$	-0.2	1.1
$1\mu\text{g}/\text{cm}^3$	-0.67	0.2
$10\mu\text{g}/\text{cm}^3$	-0.8	5.3
$100\mu\text{g}/\text{cm}^3$	-0.33	9

【0034】 綜上所述，根據本發明所提供之具高度選擇性的生物感測材料及方法，以幾丁聚醣高分子水溶液為載體溶液，取代在奈米金屬粒子上的界面活性劑，藉以維持奈米金屬粒子的分散性，並可以增進奈米金屬粒子原有的感測特性。同時，為了增強生物感測材料之靈敏度與選擇性，本發明利用操控環境 pH 值來控制待測物與感測元件的表面電位 (zeta potential)。將 pH 值調整到接近但小於某特定生物分子之等電位點，使特定生物分子恰巧可突破幾丁聚醣核殼結構所產生的電子屏蔽，並因電荷與奈

米金屬粒子表面電荷相異而易吸附於奈米金屬粒子表面上，而非幾丁聚醣核殼結構表面。相對於其他待測物質在此特定的pH值下，則無法穿透屏蔽或是吸附到奈米金屬粒子表面上，因此不會造成奈米金屬粒子的紫外光-可見光(UV-vis)吸收訊號造成偏移。本發明可穩定奈米金屬粒子的分散性及提升奈米金屬粒子表面對於待測物之靈敏度，且同時賦予生物感測元件對於待測物的良好選擇性，而增強生物感測元件之感測能力。

【0035】 唯以上所述者，僅為本發明之較佳實施例而已，並非用來限定本發明實施之範圍。故即凡依本發明申請範圍所述之特徵及精神所為之均等變化或修飾，均應包括於本發明之申請專利範圍內。

【符號說明】

【0036】

- 10 幾丁聚醣核殼結構
- 20 奈米金屬粒子

申請專利範圍

1. 一種具高度選擇性的生物感測材料，包含有：
一載體溶液，係為一幾丁聚醣高分子自組裝形成核殼結構於其中之水溶液；及
複數奈米金屬粒子，吸附並分散於該核殼結構表面；
其中，該些複數奈米金屬粒子和該載體溶液係混合形成為一幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液，且該幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值係接近並小於特定之一生物分子的等電位點（IEP），而讓該些奈米金屬粒子對於該生物分子具有專一選擇性吸附能力。
2. 如請求項1所述之具高度選擇性的生物感測材料，其中該幾丁聚醣高分子係為經雙性改質之幾丁聚醣（carboxymethyl hexanoyl chitosan, CHC）高分子。
3. 如請求項1所述之具高度選擇性的生物感測材料，其中該些奈米金屬粒子之材質係為金、銀或鉑。
4. 如請求項1所述之具高度選擇性的生物感測材料，更包含一緩衝溶液，以調整該幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值。
5. 如請求項4所述之具高度選擇性的生物感測材料，其中該緩衝溶液為檸檬酸與檸檬酸鈉混合溶液、乙酸與乙酸鈉混合溶液、醋酸與醋酸鈉混合溶液、或檸檬酸、磷酸氫鉀、硼酸與二乙基巴比妥酸混合溶液。
6. 如請求項1所述之具高度選擇性的生物感測材料，其中該生物分子為蛋白質、三聚氰胺或咖啡因，該蛋白質為人血清白蛋白（human serum albumin,

HSA) 或溶菌酶 (Lysozyme)。

7. 如請求項6所述之具高度選擇性的生物感測材料，其中該生物分子爲人血清白蛋白，該幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值爲5。
8. 如請求項6所述之具高度選擇性的生物感測材料，其中該生物分子爲溶菌酶，該幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值爲9。
9. 一種具高度選擇性的生物感測方法，包含下列步驟：

提供一生物感測材料，該生物感測元件材料係一幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液，並由一載體溶液與複數奈米金屬粒子予以混合而成，該載體溶液係爲一幾丁聚醣高分子自組裝形成核殼結構於其中之水溶液，該些奈米金屬粒子係吸附並分散於該核殼結構表面；

調整該幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值至接近並小於特定之一生物分子的等電位點 (IEP)，而讓該些奈米金屬粒子對於該生物分子具有專一選擇性吸附能力；及

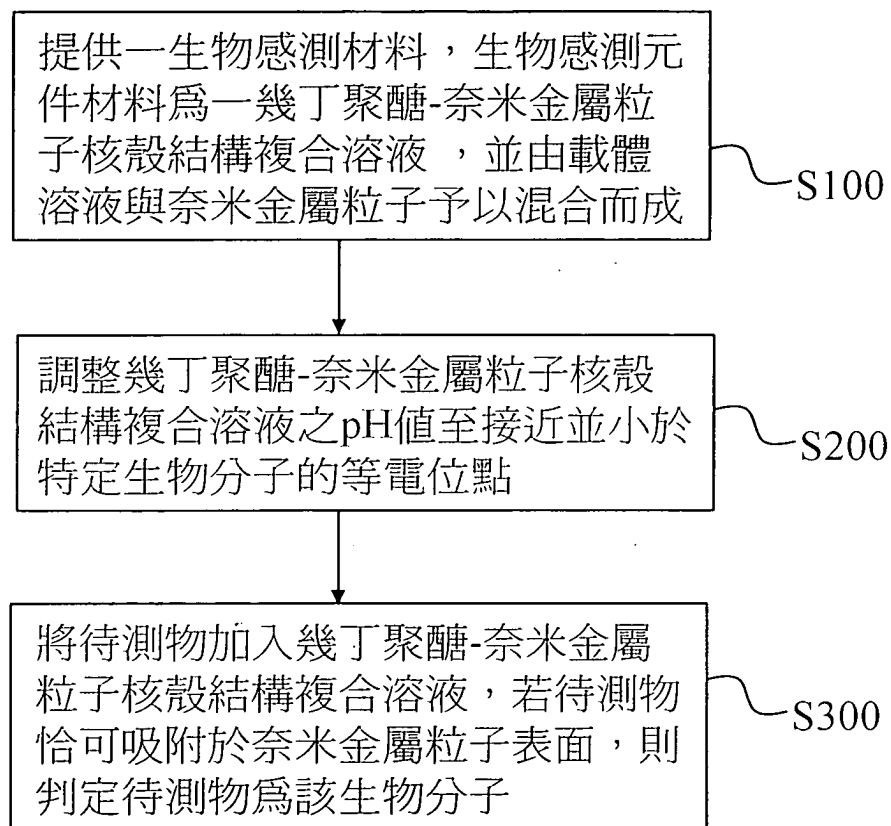
將至少一待測物加入該幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液，若該待測物恰可吸附於該些奈米金屬粒子表面，則判定該待測物爲該生物分子。

10. 如請求項9所述之具高度選擇性的生物感測方法，其中該幾丁聚醣高分子係爲經兩性改質之幾丁聚醣 (carboxymethyl hexanoyl chitosan, CHC) 高分子。
11. 如請求項9所述之具高度選擇性的生物感測方法，其中該些奈米金屬粒子之材質係爲金、銀或鉑。
12. 如請求項9所述之具高度選擇性的生物感測方法，其中調整該幾丁聚醣-

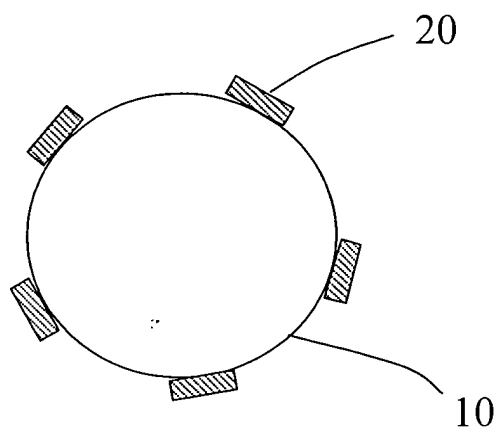
奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值之步驟，係使用一緩衝溶液。

- 13.如請求項12所述之具高度選擇性的生物感測方法，其中該緩衝溶液為檸檬酸與檸檬酸鈉混合溶液、乙酸與乙酸鈉混合溶液、醋酸與醋酸鈉混合溶液、或檸檬酸、磷酸氫鉀、硼酸與二乙基巴比妥酸混合溶液。
- 14.如請求項9所述之具高度選擇性的生物感測方法，其中該生物分子為蛋白質、三聚氰胺或咖啡因，該蛋白質為人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)或溶菌酶(Lysozyme)。
- 15.如請求項14所述之具高度選擇性的生物感測方法，其中該生物分子為人血清白蛋白，則調整該幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值為5。
- 16.如請求項14所述之具高度選擇性的生物感測方法，其中該該生物分子為溶菌酶，則調整該幾丁聚醣-奈米金屬粒子核殼結構複合溶液之pH值為10。

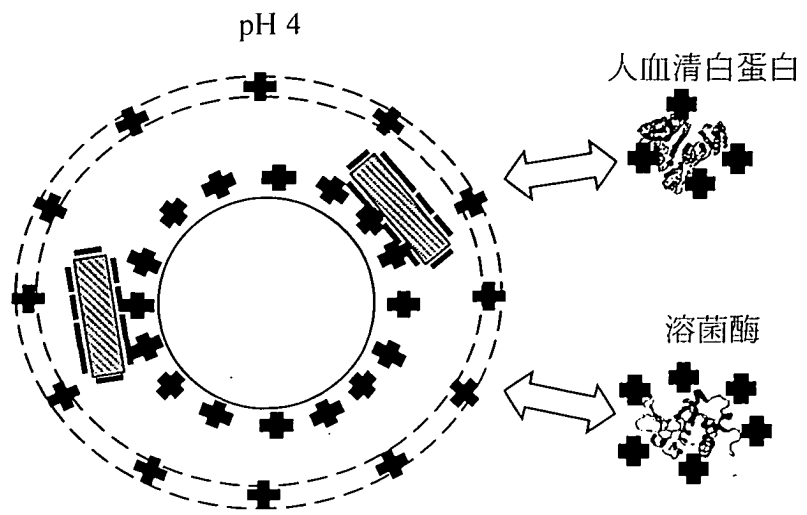
圖式



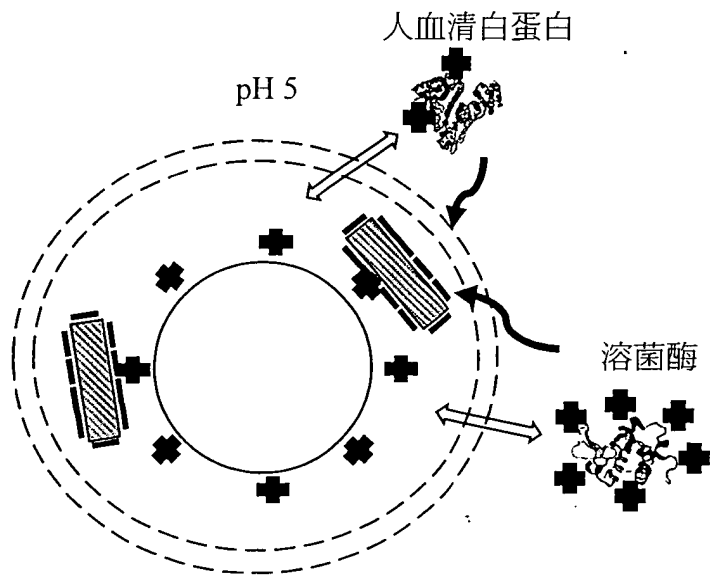
第1圖



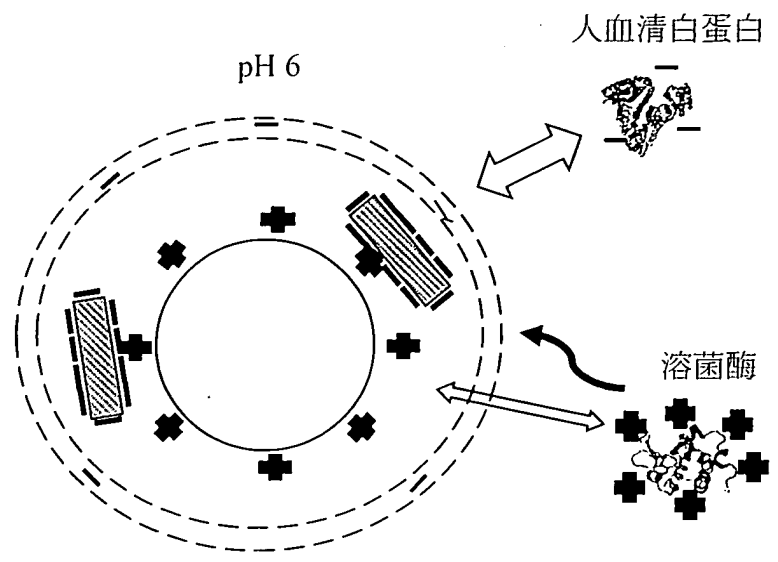
第2圖



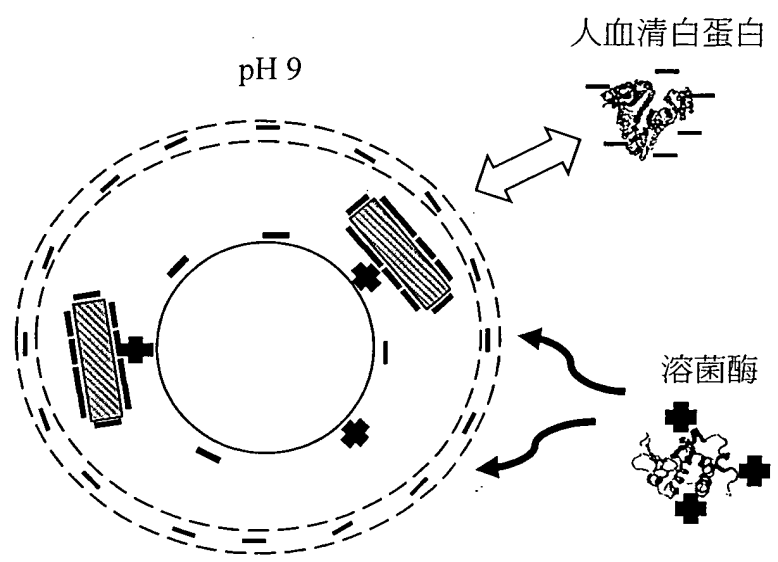
第3A圖



第3B圖



第3C圖



第3D圖